

Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets



(11) **EP 0 927 761 A2**

(12) **EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG**

(43) Veröffentlichungstag:
07.07.1999 Patentblatt 1999/27

(21) Anmeldenummer: 98123331.5

(22) Anmeldetag: 08.12.1998

(51) Int. Cl.⁶: **C12N 15/52**, C12N 15/53,
C12N 15/54, C12P 25/00,
C12N 9/00, C12N 9/04,
C12N 9/10, C12N 9/12

(84) Benannte Vertragsstaaten:
**AT BE CH CY DE DK ES FI FR GB GR IE IT LI LU
MC NL PT SE**
Benannte Erstreckungsstaaten:
AL LT LV MK RO SI

(30) Priorität: 23.12.1997 DE 19757755

(71) Anmelder:
**BASF AKTIENGESELLSCHAFT
67056 Ludwigshafen (DE)**

(72) Erfinder:
• **Pompejus, Markus Dr.**
67165 Waldsee (DE)
• **Seulberger, Harald Dr.**
67141 Neuhofen (DE)
• **Höffken, Hans Wolfgang Dr.**
67069 Ludwigshafen (DE)
• **Revuelta Doval, Jose Luis Prof.-Dr.**
37001 Salamanca (ES)
• **Jimenez, Alberto**
37006 Salamanca (ES)
• **Santos Garcia, Maria Angeles Dr.**
37009 Salamanca (ES)

(54) **Gene der Purinbiosynthese aus *Ashbya gossypii* und deren Verwendung in der mikrobiellen Riboflavinsynthese**

(57) Gene der Purinbiosynthese aus *Ashbya gossypii* und deren Verwendung in der mikrobiellen Riboflavinsynthese.

EP 0 927 761 A2

Beschreibung

[0001] Die vorliegende Erfindung betrifft Gene der Purinbiosynthese aus *Ashbya gossypii* und deren Verwendung in der Riboflavinsynthese.

[0002] Vitamin B2, auch Riboflavin genannt, ist für Mensch und Tier essentiell. Bei Vitamin B2-Mangel treten Entzündungen der Mund- und Rachenschleimhäute, Juckreiz und Entzündungen in den Hautfalten und ähnliche Hautschäden, Bindehautentzündungen, verminderte Sehschärfe und Trübung der Hornhaut auf. Bei Säuglingen und Kindern können Wachstumsstillstand und Gewichtsabnahme eintreten. Vitamin B2 hat daher wirtschaftliche Bedeutung insbesondere als Vitaminzusatz bei Vitaminmangel und als Futtermittelzusatz. Daneben wird es als Lebensmittelfarbstoff, beispielsweise in Mayonnaise, Eiscreme, Pudding etc. eingesetzt.

[0003] Die Herstellung von Vitamin B2 erfolgt entweder chemisch oder mikrobiell (siehe z.B. Kurth et al. (1996) Riboflavin, in: Ullmann's Encyclopedia of industrial chemistry, VCH Weinheim). Bei den chemischen Herstellungsverfahren wird Riboflavin in der Regel in mehrstufigen Prozessen als reines Endprodukt gewonnen, wobei relativ kostspielige Ausgangsprodukte, wie z.B. D-Ribose, eingesetzt werden müssen. Eine Alternative zur chemischen Synthese von Riboflavin ist die Herstellung dieses Stoffes durch Mikroorganismen. Als Ausgangsstoffe dienen dabei nachwachsende Rohstoffe, wie Zucker oder pflanzliche Öle. Die Herstellung von Riboflavin durch Fermentation von Pilzen wie *Eremothecium ashbyii* oder *Ashbya gossypii* ist bekannt (The Merck Index, Windholz et al., eds. Merck & Co., Seite 1183, 1983), aber auch Hefen, wie z.B. *Candida*, *Pichia* und *Saccharomyces* oder Bakterien, wie z.B. *Bacillus*, *Clostridien* oder *Corynebakterien* sind als Riboflavin-Produzenten beschrieben.

[0004] In der EP 405370 sind Riboflavin-überproduzierende Bakterienstämme beschrieben, die durch Transformation der Riboflavin-Biosynthese-Gene aus *Bacillus subtilis* erhalten wurden. Diese dort beschriebenen Gene und andere, an der Vitamin B2-Biosynthese beteiligten Gene aus Prokaryonten sind für ein rekombinantes Riboflavin-Herstellungsverfahren mit Eukaryonten, wie z.B. *Saccharomyces cerevisiae* oder *Ashbya gossypii* ungeeignet.

[0005] In der DE 44 20 785 sind sechs Riboflavin-Biosynthesegene aus *Ashbya gossypii* beschrieben, sowie Mikroorganismen, die mit diesen Genen transformiert wurden und die Verwendung solcher Mikroorganismen zur Riboflavinsynthese.

[0006] Mit diesen Verfahren ist es möglich, Produktionsstämme für die mikrobielle Riboflavinsynthese zu erzeugen. Diese Produktionsstämme besitzen jedoch häufig Stoffwechsellimitierungen, die durch die insertierten Biosynthesegene nicht beseitigt werden können oder manchmal erst dadurch entstehen. Solche Produktionsstämmen können manchmal nicht genügend Substrat zur Sättigung mancher Biosyntheseschritte liefern, so daß die Biosynthesekapazität mancher Stoffwechselabschnitte gar nicht voll ausgeschöpft werden kann.

[0007] Daher ist es wünschenswert, weitere Teilbereiche von Stoffwechselwegen zu verstärken, dadurch Stoffwechselengpässe zu beseitigen und dadurch dann die für die mikrobielle Riboflavinsynthese eingesetzten Mikroorganismen (Produktionsstämme) bezüglich ihrer Fähigkeit zur Riboflavinsynthese weiter zu optimieren. Es ist anzustreben, die zu verstärkenden Teilbereiche des komplexen Stoffwechsels zu identifizieren und diese auf geeignete Weise zu verstärken.

[0008] Die Erfindung betrifft neue Proteine der Purinbiosynthese, deren Gene und deren Verwendung für die mikrobielle Riboflavinsynthese.

[0009] Der Purinstoffwechsel (für eine Übersicht siehe z.B. Voet, D. und Voet, J.G., 1994, Biochemie, VCH Weinheim, Seite 743-771; Zalkin, H. und Dixon, J.E., 1992, De novo purine nucleotide biosynthesis, in: Progress in nucleic acid research and molecular biology, Vol. 42, Seite 259-287, Academic Press) ist ein für alle Lebewesen essentieller Teil des Stoffwechsels. Fehlerhafter Purinstoffwechsel kann beim Menschen zu schweren Krankheiten führen (z.B. Gicht). Der Purinstoffwechsel ist zudem ein wichtiges target für die Therapie von Tumorerkrankungen und Virusinfektionen. Zahllose Publikationen sind erschienen, die Substanzen für diese Indikationen beschreiben die im Purinstoffwechsel eingreifen (als Übersicht z.B. Christopherson, R.I. und Lyons, S.D., 1990, Potent inhibitors of de novo pyrimidine and purine biosynthesis as chemotherapeutic agents, Med. Res. Reviews 10, Seite 505-548).

[0010] Untersuchungen der in Purinstoffwechsel beteiligten Enzyme (Smith, J.L., Enzymes in nucleotide synthesis, 1995, Curr. Opinion Struct. Biol. 5, 752-757) zielen darauf ab, neue immunsuppressiv, anti-parasitär oder anti-proliferierend wirkende Medikamente zu entwickeln (Biochem. Soc. Transact. 23, Seite 877-902, 1995).

[0011] Bei diesen Medikamenten handelt es sich dann üblicherweise um natürlich nicht vorkommende Purine, Pyrimidine oder davon abgeleiteter Verbindungen.

[0012] Gegenstand der Erfindung ist ein Protein mit der in SEQ ID NO:2 dargestellten Polypeptidsequenz oder einer aus SEQ ID NO:2 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 15% der Aminosäuren erhältlichen Polypeptidsequenz und der enzymatischen Aktivität einer Phosphoribosylpyrophosphat-Synthetase.

[0013] Die in SEQ ID NO:2 dargestellte Sequenz ist das aus *Ashbya gossypii* erhaltene Genprodukt des KPR1 Gens (SEQ ID NO:1).

[0014] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Protein mit der in SEQ ID NO:5 dargestellten Polypeptidsequenz oder einer aus SEQ ID NO:5 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 10% der Aminosäuren erhältlichen

Polypeptidsequenz und der enzymatischen Aktivität einer Glutamin-Phosphoribosylpyrophosphat-Amidotransferase.

[0015] Die in SEQ ID NO:5 dargestellte Sequenz ist das aus *Ashbya gossypii* erhaltene Genprodukt des ADE4 Gens (SEQ ID NO:3).

[0016] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Protein mit der in SEQ ID NO:8 dargestellten Polypeptidsequenz oder einer aus SEQ ID NO:8 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20% der Aminosäuren erhältlichen Polypeptidsequenz und der enzymatischen Aktivität einer IMP-Dehydrogenase.

[0017] Die in SEQ ID NO:8 und 9 dargestellte Sequenz ist das aus *Ashbya gossypii* erhaltene Genprodukt des GUA1 Gens (SEQ ID NO:7).

[0018] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Protein mit der in SEQ ID NO:11 dargestellten Polypeptidsequenz oder einer aus SEQ ID NO:11 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 10% der Aminosäuren erhältlichen Polypeptidsequenz und der enzymatischen Aktivität einer GMP-Synthetase.

[0019] Die in SEQ ID NO:11 dargestellte Sequenz ist das aus *Ashbya gossypii* erhaltene Genprodukt des GUA2 Gens (SEQ ID NO:10).

[0020] Ein weiterer Gegenstand der Erfindung ist ein Protein mit der in SEQ ID NO:13 dargestellten Polypeptidsequenz oder einer aus SEQ ID NO:13 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 10% der Aminosäuren erhältlichen Polypeptidsequenz und der enzymatischen Aktivität einer Phosphoribosylpyrophosphat-Synthetase.

[0021] Die in SEQ ID NO:13 dargestellte Sequenz ist das aus *Ashbya gossypii* erhaltene Genprodukt des KPR2 Gens (SEQ ID NO:12).

[0022] Diese genannten Genprodukte können durch übliche Verfahren der Gentechnologie wie ortsgerichtete Mutagenese so verändert werden, daß bestimmte Aminosäuren ausgetauscht, zusätzlich eingeführt oder entfernt werden. Üblicherweise (aber nicht ausschließlich) werden Aminosäurereste durch solche ähnlicher Raumerfüllung, Ladung oder Hydrophilie/Hydrophobie ausgetauscht um die enzymatischen Eigenschaften der Genprodukte nicht zu verlieren. Insbesondere im aktiven Zentrum führen Veränderungen der Aminosäuresequenz oft zu drastischer Veränderung der enzymatischen Aktivitäten. An anderen, weniger essentiellen Stellen werden jedoch Veränderungen der Aminosäuresequenz häufig toleriert.

[0023] Bei den erfindungsgemäßen Proteinen können

1. im Fall des Genproduktes des AgKPR1-Gens, bis zu 15, bevorzugt bis zu 10 und besonders bevorzugt bis zu 5% der Aminosäuren gegenüber der im Sequenzprotokoll dargestellten Sequenzen verändert sein;

2. im Fall des Genproduktes des AgADE4-Gens, bis zu 10 und besonders bevorzugt bis zu 5% der Aminosäuren gegenüber der im Sequenzprotokoll dargestellten Sequenzen verändert sein;

3. im Fall des Genproduktes des AgGUA1-Gens, bis zu 20, bevorzugt bis zu 15, besonders bevorzugt bis zu 10 und insbesondere bevorzugt bis zu 5% der Aminosäuren gegenüber der im Sequenzprotokoll dargestellten Sequenzen verändert sein;

4. im Fall des Genproduktes des AgGUA2-Gens, bis zu 10 und besonders bevorzugt bis zu 5% der Aminosäuren gegenüber der im Sequenzprotokoll dargestellten Sequenzen verändert sein;

5. im Fall des Genproduktes des AgKPR2 Gens bis zu 10 %, bevorzugt bis zu 7 % und besonders bevorzugt bis zu 5 % der Aminosäuren gegenüber der im Sequenzprotokoll dargestellten Sequenzen verändert sein.

[0024] Bevorzugt sind solche Proteine, die zwar noch die jeweilige enzymatische Aktivität besitzen, aber in ihrer Regulation verändert worden sind. Viele dieser Enzyme unterliegen einer starken Aktivitätskontrolle durch Zwischen- und Endprodukte (feedback-Inhibition). Dies führt dazu, daß die Enzyme, sobald genügend Endprodukt vorhanden ist, in ihrer Aktivität gedrosselt werden.

[0025] Diese im physiologischen Zustand ökonomische Regelung führt bei Produktionsstämmen jedoch häufig dazu, daß die Produktivität nicht über eine gewisse Grenze hinaus gesteigert werden kann. Durch Beseitigung einer solchen feedback-Inhibition erreicht man, daß die Enzyme ungeachtet der Endproduktkonzentration ihre Aktivität beibehalten und dadurch Stoffwechselengpässe umgangen werden. Dies führt letztlich zu einer deutlichen Steigerung der Riboflavinbiosynthese.

[0026] Bevorzugte erfindungsgemäße Proteine sind solche, die nicht mehr durch Folgeprodukte von Stoffwechselwegen (die von Produkten der Enzyme ausgehen) gehemmt werden. Besonders bevorzugte erfindungsgemäße Proteine sind solche, die nicht mehr durch Zwischenprodukte der Purinbiosynthese, insbesondere durch Purinbasen, Purinnukleoside, Purinnukleotid-5'-Monophosphate oder Purinnukleotid-5'-Diphosphate oder Purinnukleotid-5'-Triphosphate gehemmt werden. Insbesondere bevorzugte erfindungsgemäße Proteine sind solche, mit nachfolgenden Veränderungen der Aminosäuresequenz und alle Kombinationen von Aminosäuresequenz-Veränderungen, die diese nachfolgen-

den Veränderungen enthalten.

[0027] Veränderungen der Aminosäuresequenz am AgKPR1 Genprodukt:

5 Lysin an Position 7 ausgetauscht gegen Valin Aspartat an Position 52 ausgetauscht gegen Histidin Leucin an Position 131 ausgetauscht gegen Isoleucin Aspartat an Position 186 ausgetauscht gegen Histidin Alanin an Position 193 ausgetauscht gegen Valin Histidin an Position 196 ausgetauscht gegen Glutamin

[0028] Veränderungen der Aminosäuresequenz am AgADE4 Genprodukt:

10 Aspartat an Position 310 ausgetauscht gegen Valin Lysin an Position 333 ausgetauscht gegen Alanin Alanin an Position 417 ausgetauscht gegen Tryptophan

[0029] Die folgenden Beispiele beschreiben die Herstellung der erfindungsgemäßen Proteine und Nukleinsäuren sowie deren Verwendung zur Herstellung von Mikroorganismen mit gesteigerter Riboflavinsynthese.

15 Beispiel 1:

Herstellung einer genomischen Genbank aus *Ashbya gossypii* ATCC10895

20 **[0030]** Genomische DNA aus *Ashbya gossypii* ATCC10895 kann nach üblichen Verfahren präpariert werden, z.B. wie beschrieben in EP9703208. Die genomische Genbank, ausgehend von dieser DNA, kann nach üblichen Methoden (z.B. Sambrook, J. et al. (1989) Molecular cloning: a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press oder Ausubel, F.M. et al. (1994) Current protocols in molecular biology, John Wiley and sons) in beliebigen Plasmiden oder Cosmiden, wie z.B. SuperCos1 (Stratagene, La Jolla, USA) erstellt werden.

25 Beispiel 2:

Klonierung des Gens für PRPP-Synthetase aus *Ashbya gossypii* ATCC10895 (AgKPR1)

30 **[0031]** Die Klonierung des Gens für PRPP-Synthetase aus *Ashbya gossypii* (AgKPR1) kann über zwei Schritte verlaufen. Im ersten Schritt kann mit folgenden Oligonukleotiden einen definierten Bereich des KPR1 Gens aus genomischer DNA von *Ashbya gossypii* über PCR amplifizieren:

KPR5: 5'- GATGCTAGAGACCGCGGGGTGCAAC -3'

KPR3: 5'- TGTCCGCCATGTCGTCTACAATAATA -3'

35 **[0032]** Die PCR kann nach üblicher Methode durchgeführt werden. Das resultierende 330 bp DNA Fragment kann mit üblichen Methoden in den Vektor pGEMT (Promega, Madison, USA) kloniert und sequenziert werden.

[0033] Mit dieser Nukleotidsequenz als Sonde kann mit üblichen Methoden eine genomische Cosmid-Genbank gescreent werden. Von einem Cosmid, das ein Signal mit dieser Sonde ergibt, kann dann ein 1911 bp PstI-HindIII Fragment in den Vektor pBluescript SK+ (Stratagene, La Jolla, USA) subkloniert werden. Auf diesem Fragment liegen das KPR1 Gen und unvollständige ORFs, die Homologie zeigen zu den UBC6 und UBP9 Genen aus *Saccharomyces cerevisiae*.

40 **[0034]** Die PRPP-Synthetase KPR2 und die putative PRPP-Synthetase KPR4 aus *Saccharomyces cerevisiae* sind die Enzyme, die der PRPP-Synthetase aus *Ashbya gossypii* mit Ähnlichkeiten von 80,2% bzw. 79,6% am verwandtesten sind. Die KPR2 und KPR4 Gene aus *Saccharomyces cerevisiae* sind zu 67,6% bzw. 67,8% ähnlich zum KPR1 Gen aus *Ashbya gossypii*. Andere Enzyme bzw. Gene aus anderen Organismen sind deutlich verschiedener zum KPR1 Gen bzw. zur PRPP-Synthetase aus *Ashbya gossypii*.

[0035] Die Sequenzvergleiche können z.B. mit dem Clustal Algorithmus mit Hilfe der PAM250 Gewichtungstabelle oder dem Wilbur-Lipman DNA alignment Algorithmus (wie z.B. in dem Programmpaket MegAlign 3.06 der Firma DNAstar implementiert) durchgeführt werden. Mit dem beschriebenen Oligonukleotide-Paar ist es nicht möglich, die Gene für die verschiedenen PRPP-Synthetasen aus *Saccharomyces cerevisiae* zu amplifizieren.

50 **[0036]** Mit der Sonde kann man auch noch einen Klon aus der Genbank finden. Dieser zweite Klon zeigte ein Gen, das ebenfalls für eine PRPP Synthetase kodiert. Dieses Gen wird AgKPR2 genannt und ist deutlich verschieden zu AgKPR1. AgKPR2 zeigt auf Aminosäureebene 66 % Identität zu AgKPR1. Das AgKPR2 Gen (SEQ ID NO: 12) wurde mit allen Proteinen der Swissprot Datenbank verglichen. Die maximale Ähnlichkeit zeigt dieses Protein (88 % Identität bzw. 95 % Ähnlichkeit) zum KPR3 Genprodukt aus *Saccharomyces cerevisiae*. Das Genprodukt des AgKPR1 Gens ist für den überwiegenden Teil der Aktivität der PRPP Synthetase bei *Ashbya gossypii* verantwortlich. Wenn man das AgKPR1 Gen von *Ashbya gossypii* disruptiert (analog zur Disruption anderer *Ashbya* Gene, wie in den Beschreibungen in den Beispielen 6-8), dann findet man deutlich verringerte Enzymaktivität: statt 22 U/mg Protein nur noch 3 U/mg Pro-

tein. Zur Analytik siehe Beispiel 13. In Beispiel 11, 13 und 15 werden Ausführungsbeispiele mit dem AgKPR1 Gen gezeigt, man kann solche Arbeiten aber auch mit AgKPR2 durchführen.

Beispiel 3:

Klonierung des Gens für Glutamin-PRPP-Amidotransferase aus *Ashbya gossypii* ATCC10895 (AgADE4)

[0037] Die Klonierung des Gens für Glutamin-PRPP-Amidotransferase aus *Ashbya gossypii* (AgADE4) kann über zwei Schritte verlaufen. Im ersten Schritt kann mit folgenden Oligonukleotiden einen definierten Bereich des AgADE4 Gens aus genomischer DNA von *Ashbya gossypii* über PCR amplifizieren:

ADE4A: 5'- ATATCTTGATGAAGACGTTACCGT -3'

ADE4B: 5'- GATAATGACGGCTTGGCCGGAAGA -3'

[0038] Die PCR kann nach üblicher Methode durchgeführt werden. Das resultierende 360 bp DNA Fragment kann mit üblichen Methoden in den Vektor pGEMT (Promega, Madison, USA) kloniert und dann sequenziert werden.

[0039] Mit dieser Sequenz als Sonde kann mit üblichen Methoden eine genomische Cosmid-Genbank gescreent werden. Von einem Cosmid, das ein Signal mit dieser Sonde ergibt, kann dann ein 5369 bp HindIII Fragment in den Vektor pBluescript SK+ (Stratagene, La Jolla, USA) subkloniert werden. Auf diesem Fragment liegen das AgADE4 Gen und das Gen für das *Ashbya* Homolog für den mitochondrialen ABC Transporter ATM1 aus *Saccharomyces cerevisiae* und ein weiterer offener Leseraster, dessen Funktion nicht bekannt ist.

[0040] Das AgADE4 Genprodukt (Glutamin-PRPP-Amidotransferase) zeigt die deutlichste Ähnlichkeit zu den ADE4 Genprodukten aus *Saccharomyces cerevisiae* und *Saccharomyces kluyveri* (81% bzw. 86.3%). Die entsprechenden Gene sind jedoch nur zu 68.8% bzw. 72% homolog. Die Ähnlichkeit zu anderen Glutamin-PRPP-Amidotransferasen ist deutlich geringer (z.B. nur 27.5% Ähnlichkeit zum entsprechenden Enzym aus *Bacillus subtilis*). Die Sequenzvergleiche kann man so durchführen, wie in Beispiel 2 beschrieben.

[0041] Es ist mit dem beschriebenen Paar an Oligonukleotiden nicht möglich, die ADE4 Gene aus *Saccharomyces cerevisiae* oder *Saccharomyces kluyveri* zu amplifizieren.

Beispiel 4:

Klonierung des Gens für Inosin-Monophosphat-Dehydrogenase aus *Ashbya gossypii* ATCC10895 (AgGUA1)

[0042] Die Klonierung des Gens für Inosin-Monophosphat-Dehydrogenase aus *Ashbya gossypii* (AgGUA1) kann über zwei Schritte verlaufen.

[0043] Im ersten Schritt kann man mit folgenden Oligonukleotiden einen definierten Bereich des AgGUA1 Gens aus genomischer DNA von *Ashbya gossypii* über PCR amplifizieren:

IMP5: 5'- GGCATCAACCTCGAGGAGGCGAACC -3'

IMP3: 5'- CAGACCGGCCTCGACCAGCATCGCC - 3'

[0044] Die PCR kann nach üblicher Methode durchgeführt werden. Das resultierende 230 bp DNA Fragment kann mit üblichen Methoden in den Vektor pGEMT (Promega, Madison, USA) kloniert und dann sequenziert werden.

[0045] Mit dieser Sequenz als Sonde kann mit üblichen Methoden eine genomische Cosmid-Genbank gescreent werden. Von einem Cosmid, das ein Signal mit dieser Sonde ergibt, kann ein 3616 bp ApaI Fragment in den Vektor pBluescript SK+ (Stratagene, La Jolla, USA) subkloniert werden. Die kodierende Region des AgGUA1 Gens ist 1569 bp lang und ist unterbrochen von einem 161 bp langen Intron. Die Intron Grenzen (5' splice site AGGTATGT und 3' splice site CAG) kann man durch Klonierung und Sequenzierung von AgGUA1cDNA verifizieren.

[0046] AgGUA1 ist das erste beschriebene Gen aus *Ashbya gossypii* mit einem Intron.

[0047] Das AgGUA1 Genprodukt (IMP-Dehydrogenase) zeigt die deutlichste Ähnlichkeit zu den 4 IMP-Dehydrogenasen aus *Saccharomyces cerevisiae* (Ähnlichkeiten zwischen 67% und 77.2%). Die Ähnlichkeit zu anderen IMP-Dehydrogenasen ist deutlich geringer. Die Sequenzvergleiche kann man so durchführen, wie in Beispiel 2 beschrieben. *Ashbya gossypii* scheint nur ein Gen für dieses Enzym zu haben. Dies kann man durch southern blotting mit genomischer DNA von *Ashbya gossypii* mit Hilfe der oben genannter Sonde zeigen.

[0048] Das Gen aus *Saccharomyces cerevisiae*, das für die dem AgGUA1 Genprodukt ähnlichste IMP-Dehydrogenase kodiert (IMH3), hat eine Ähnlichkeit von 70.2% zum AgGUA1 Gen. Es ist mit dem beschriebenen Paar an Oligonukleotiden nicht möglich, dieses Gen aus *Saccharomyces cerevisiae* zu amplifizieren.

Beispiel 5:

Klonierung des Gens für Guanosin-Monophosphat-Synthetase aus *Ashbya gossypii* ATCC10895 (AgGUA2)

- 5 [0049] Die Klonierung des Gens für Guanosin-Monophosphat-Synthetase aus *Ashbya gossypii* (AgGUA2) kann über zwei Schritte verlaufen. Im ersten Schritt kann man mit folgenden Oligonukleotiden einen definierten Bereich des AgGUA2 Gens aus genomischer DNA von *Ashbya gossypii* über PCR amplifizieren:
- GUA2A: 5'- TGGACCGGGCGGTGTTGAGTTGGG -3'
- GUA2B: 5'- AGGCTGGATCCTGGCTGCCTCGCGC -3'
- 10 [0050] Die PCR Reaktion kann nach üblicher Methode durchgeführt werden. Das resultierende 750 bp DNA Fragment kann mit üblichen Methoden in den Vektor pBluescript SK+ (Stratagene, La Jolla, USA) kloniert und dann sequenziert werden.
- [0051] Mit dieser Sequenz als Sonde kann mit üblichen Methoden eine genomische Cosmid-Genbank gescreent werden. Von einem Cosmid, das ein Signal mit dieser Sonde ergibt, kann dann ein 2697 bp ClaI-EcoRV Fragment in den
- 15 Vektor pBluescript SK+ (Stratagene, La Jolla, USA) subkloniert werden.
- [0052] Das AgGUA2 Genprodukt (GMP-Synthetase) zeigt die deutlichste Ähnlichkeit zu GMP-Synthetase aus *Saccharomyces cerevisiae* (Ähnlichkeiten 86.6%). Die Gene für die GMP-Synthetasen aus *Saccharomyces cerevisiae* und *Ashbya gossypii* sind zu 71.2% homolog. Die Ähnlichkeit des AgGUA2 Genproduktes zu anderen IMP-Dehydrogenasen ist deutlich geringer. Die Sequenzvergleiche kann man so durchführen, wie in Beispiel 2 beschrieben.
- 20 [0053] Es ist mit dem beschriebenen Paar an Oligonukleotiden nicht möglich, das GMP-Synthetase Gen aus *Saccharomyces cerevisiae* zu amplifizieren.

Beispiel 6:

25 Disruption des AgADE4 Gens von *Ashbya gossypii* ATCC10895

- [0054] Unter Disruption eines Gens versteht man die Zerstörung der Funktionalität einer genomischen Kopie des Gens entweder durch (a) Entfernen eines Teiles der Gensequenz, oder durch (b) der Unterbrechung des Gens durch
- 30 Einfügung eines Stückes Fremd-DNA in das Gen oder durch (c) Ersatz eines Teil des Gens durch Fremd-DNA. Die verwendete Fremd-DNA ist beliebig, bevorzugt aber ein Gen, das Resistenz gegen eine beliebige Chemikalie bewirkt. Zur Disruption von Genen können beliebige Resistenzgene verwendet werden.
- [0055] Zur Disruption des AgADE4-Gens von *Ashbya gossypii* ATCC10895 kann man ein Gen verwenden, das Resistenz gegen G418 vermittelt. Es kann sich dabei um das Kanamycin-Resistenzgen aus TN903, unter Kontrolle des TEF-Promotors von *Ashbya gossypii* (siehe z.B. Yeast 10, S.1793-1808, 1994, WO9200379) handeln. Das Gen ist 5'
- 35 und 3' von mehreren Schnittstellen für Restriktionsendonukleasen flankiert, so daß eine Kassette aufgebaut wurde, die beliebige Konstruktionen von Gen-Disruptionen mit üblichen Methoden der in vitro Manipulation von DNA ermöglichen.
- [0056] Das interne HincII Fragment von AgADE4 (zwischen den Positionen 2366 und 2924) kann durch eine wie oben skizzierte Resistenzkassette ersetzt werden. Das erhaltene Konstrukt erhält den Namen ade4::G418.
- [0057] Das erhaltene Plasmid kann man in *E.coli* vermehren. Das BamHI / BglII- Fragment des Konstruktes
- 40 ade4::G418 kann präpariert, über Agarosegel-Elektrophorese und nachfolgende Elution der DNA aus dem Gel (siehe Proc. Natl. Acad. Sci. USA 76, 615-619, 1979) aufgereinigt und zur Transformation von *Ashbya gossypii* eingesetzt werden.
- [0058] *Ashbya gossypii* kann durch Protoplastentransformation (Gene 109, 99-105, 1991), bevorzugt aber durch Elektroporation (BioRad Gene Pulser, Bedingungen: Küvetten mit Spaltbreite 0,4 mm, 1500V, 25µF, 100Ω) transformiert werden. Die Selektion transformierter Zellen erfolgt auf G418-haltigem Festmedium.
- 45 [0059] Erhaltene G418-resistente Klone können mit üblichen Methoden der PCR und Southern-Blot Analyse daraufhin untersucht werden, ob die genomische Kopie des AgADE4 Gens tatsächlich zerstört ist. Klone, deren AgADE4 Gen zerstört ist, sind Purin- auxotroph.

50 Beispiel 7:

Disruption des AgGUA1 Gens von *Ashbya gossypii* ATCC10895

- [0060] Zur prinzipiellen Beschreibung der Disruption von Genen, der Verwendung einer Resistenzkassette und der
- 55 Transformation von *Ashbya gossypii* siehe Beispiel 6.
- [0061] Das interne XhoI / KpnI Fragment von AgGUA1 (zwischen den Positionen 1620 und 2061) kann durch eine wie oben skizzierte Resistenzkassette ersetzt werden. Das erhaltene Konstrukt erhält den Namen gua1::G418.
- [0062] Das erhaltene Plasmid kann in *E.coli* vermehrt werden. Das XbaI / BamHI - Fragment des Konstruktes

gua1::G418 kann präpariert, über Agarosegel-Elektrophorese und nachfolgende Elution der DNA aus dem Gel aufgereinigt und zur Transformation von *Ashbya gossypii* eingesetzt werden.

[0063] Erhaltene G418-resistente Klone können mit üblichen Methoden der PCR und Southern-Blot Analyse daraufhin untersucht werden, ob die genomische Kopie des AgGUA1 Gens tatsächlich zerstört ist. Klone, deren AgGUA1 Gen zerstört ist, sind Guanin- auxotroph.

Beispiel 8:

Disruption des AgGUA2 Gens von *Ashbya gossypii* ATCC10895

[0064] Zur prinzipiellen Beschreibung der Disruption von Genen, der Verwendung einer Resistenzkassette und der Transformation von *Ashbya gossypii* siehe Beispiel 6.

[0065] Das interne Sall Fragment von AgGUA2 (zwischen den Positionen 1153 und 1219) kann man durch eine wie oben skizzierte Resistenzkassette ersetzen. Das erhaltene Konstrukt erhält den Namen gua2::G418.

[0066] Das erhaltene Plasmid kann in *E.coli* vermehrt werden. Das XbaI / BamHI - Fragment des Konstruktes gua2::G418 kann präpariert, über Agarosegel-Elektrophorese und nachfolgende Elution der DNA aus dem Gel aufgereinigt und zur Transformation von *Ashbya gossypii* eingesetzt werden.

[0067] Erhaltene G418-resistente Klone können mit üblichen Methoden der PCR und Southern-Blot Analyse daraufhin untersucht werden, ob die genomische Kopie des AgGUA2 Gens tatsächlich zerstört ist. Klone, deren AgGUA2 Gen zerstört ist, sind Guanin- auxotroph.

Beispiel 9:

Klonierung des GAP-Promotors aus *Ashbya gossypii*

[0068] Das Gen für Glycerinaldehyd-3-Phosphat-Dehydrogenase aus *Ashbya gossypii* (AgGAP) kann man durch ein allgemein übliches Screening einer genomischen *Ashbya gossypii* Cosmid-Genbank (siehe Beispiel 1, mit einer Sonde, die aus Sequenzinformationen des GAP Gens aus *Saccharomyces cerevisiae* erstellt wurde) klonieren.

[0069] Der 5' nicht-translatierte Bereich des Gens (-373 bis -8 Region, bezogen auf den Translationsstart) wurde als Promotor angenommen. Flankierend zu dieser Sequenz wurden 2 Schnittstellen für die Restriktionsendonuklease NotI eingeführt. In diesem Bereich findet man die bona fide TATA Box (nt 224-230), zwei Sequenzabschnitte (nt 43-51 und 77-85), die dem sogenannten GCR1 binding element und einen Sequenzabschnitt, (nt 9-20) dessen Komplement partial dem RAP1 binding element von *Saccharomyces cerevisiae* entspricht (siehe z.B. Johnston, M. und Carlson, M. (1992) pp.193-281 in The molecular biology and cellular biology of the yeast *Saccharomyces*: Gene expression, Cold Spring Harbor Laboratory Press). Die so konstruierte Promotorkassette kann als einfach portierbares Expressionssignal vor jedes beliebige Gen für die Überexpression in *Ashbya gossypii* gesetzt werden und führt zu deutlicher Überexpression von Genen in *Ashbya gossypii*, wie gezeigt in Beispiel 11.

Beispiel 10:

Konstruktion von Plasmiden mit Genen unter Kontrolle des GAP-Promotors aus *Ashbya gossypii*

[0070] Zur Einfügung der GAP-Promotorkassette 5' der kodierenden Region des AgADE4 Gens wurde nach üblichen Methode (z.B. Clover, D.M. und Hames, B.D. (1995) DNA cloning Vol.1, IRL press) 8 bp 5' des ATG Startcodons eine singuläre NotI Schnittstelle (Erkennungssequenz GCGGCCGC) eingeführt.

[0071] Die GAP-Promotorkassette kann dann über NotI in diese Position eingefügt werden. Analog kann man vorgehen bei der Klonierung der GAP-Promotorkassette 5' der kodierenden Region der Gene AgKPR1, AgGUA1, AgGUA2 sowie bei Varianten der Gene AgADE4, AgKPR1, AgGUA1 und AgGUA2.

[0072] In *Ashbya gossypii* wird die Expression der Gene, die die GAP-Promotorkassette 5' der kodierenden Region tragen durch den GAP-Promotor kontrolliert.

Beispiel 11:

Überexpression Genen in *Ashbya gossypii* unter Kontrolle des GAP-Promotors

[0073] Die Transformation von *Ashbya gossypii* mit den in Beispiel 10 beschriebenen DNA-Konstrukten kann man durchführen wie in Beispiel 6 beschrieben. Als Empfänger können bevorzugt, aber nicht ausschließlich, solche Klone dienen, die vor der hier durchzuführenden Transformation eine Disruption des zu überexprimierenden Gens tragen. So

kann man z.B. die in Beispiel 6 beschriebene Mutante von *Ashbya gossypii*, die eine *ade4::G418* Mutation trägt, mit einem in Beispiel 10 beschriebenen GAP-ADE4 Konstrukt transformieren. Man kann die Integration des Konstruktes in das Genom durch Southern-Blot-Analyse verifizieren. Die resultierenden Klone tragen kein G418 Resistenzgen mehr (sind somit G418 sensitiv) und sind Purin-prototroph. Die Überexpression kann durch Northern-Blot-Analyse oder Nachweis der enzymatischen Aktivität (wie in Beispiel 12 beschrieben) nachgewiesen werden. Bei Expression des AgADE4 Gens unter dem natürlichen Promotor kann man 0,007 U/mg Protein nachweisen. Bei Expression des AgADE4 Gens unter dem GAP Promotor kann man 0,382 U/mg Protein nachweisen

[0074] Ein Sequenzabschnitt der kodierenden Region des AgADE4 Gens kann als Sonde verwendet werden. Analog kann man mit AgKPR1, AgGUA1, AgGUA2 sowie bei Varianten all dieser Gene vorgehen. Außerdem kann man Kombinationen aus einem dieser Gene, zusammen mit anderen Genen auf diese Weise in das Genom von *Ashbya gossypii* einbringen.

[0075] Der *Ashbya gossypii* Wild-Typ hat eine spezifische PRPP Synthetase Aktivität von 22 U/mg Protein (zur Analytik der PRPP-Synthetase siehe Beispiel 13). Bei Expression des AgKPR1-Gens unter dem GAP-Promotor kann man 855 U/mg Protein nachweisen.

Beispiel 12:

[0076] Varianten des AgADE4 Genproduktes (Glutamin-PRPP-Amidotransferase), die nicht mehr feedback durch Purine oder Zwischenprodukte der Purinsynthese gehemmt werden.

[0077] Glutamin-PRPP-Amidotransferasen werden durch Purin-Nukleotide feedback inhibiert. Diese Inhibition findet man in zahlreichen Organismen (siehe z.B. Switzer, R.L. (1989) Regulation of bacterial Glutamine Phosphoribosylpyrophosphate Amidotransferase, in: Allosteric enzymes pp. 129-151, CRC press, Boca Raton).

[0078] Die Glutamin-PRPP-Amidotransferase aus *Ashbya gossypii* wird ebenfalls durch AMP oder GMP gehemmt (siehe Abbildung). Die Aktivität der Glutamin Phosphoribosylpyrophosphat Amidotransferase aus *Ashbya gossypii* kann man messen, wie beschrieben in Messenger und Zalkin (1979) J. Biol. Chem. 254, Seite 3382-3392.

[0079] Man kann veränderte Glutamin Phosphoribosylpyrophosphat Amidotransferasen konstruieren, die nicht mehr durch Purine gehemmt werden. Es ist offensichtlich, daß die Überexpression solch deregulierter Enzyme den Purinstoffwechsel deutlich mehr verstärken als die Überexpression der feedback inhibierten Enzyme. Veränderungen der Sequenz des AgADE4 Gens können nach üblichen Methoden (z.B. Glover, D.M. und Hames, B.D. (1995) DNA cloning Vol. 1, IRL press) vorgenommen werden. Man kann z.B. folgende Aminosäuren der Glutamin Phosphoribosylpyrophosphat Amidotransferase austauschen:

[0080] Das Codon, das für Aspartat an der Position 310 kodiert, kann durch ein Codon ersetzt werden, das für Valin kodiert. Das Codon, das für Lysin an der Position 333 kodiert, kann durch ein Codon ersetzt werden, das für Alanin kodiert. Das Codon, das für Alanin an der Position 417 kodiert, kann durch ein Codon ersetzt werden, das für Tryptophan kodiert. Zusätzlich können AgADE4 Gene konstruiert werden, die Kombinationen dieser Austausche tragen.

[0081] Alle Enzyme, die den D310V, den K333A, den A417W oder jede Kombination von Austauschen tragen, die D310V oder K333A enthalten, zeigen verringerte feedback inhibition durch AMP und GMP (siehe Abbildung). Dies kann z.B. nach Expression der Enzyme in *Ashbya gossypii* (siehe Beispiel 11) gezeigt werden.

Beispiel 13:

[0082] Varianten des AgKPR1 Genproduktes (PRPP-Synthetase), die nicht mehr feedback durch Purine oder Zwischenprodukte der Purinsynthese gehemmt werden.

[0083] PRPP-Synthetasen werden feedback durch Purine, Pyrimidine und Aminosäuren inhibiert. Diese Inhibition findet man in zahlreichen Organismen (siehe z.B. Gibson, K.J. et al. (1982) J. Biol. Chem. 257, 2391-2396; Tatibana, M. et al. (1995) Adv., Enzyme Regul. 35, 229-249 und darin zitierte Arbeiten).

[0084] In der Forschung der klinischen Medizin sind Fälle erblicher Gicht beschrieben, deren Basis eine verstärkte Purinbiosynthese ist. Die molekulare Ursache hierfür ist eine sogenannte Superaktivität der humanen PRPP Synthetase (siehe z.B. Amer. J. Med. 55 (1973) 232-242; J. Clin. Invest. 96 (1995) 2133-2141; J. Biol. 268 (1993) 26476-26481). Die Basis hierfür kann eine Mutation sein, die dazu führt, daß das Enzym nicht mehr durch Purine feedback inhibiert wird.

Die Aktivität der PRPP Synthetase aus *Ashbya gossypii* kann man messen wie in Anal. Biochem. 98 (1979) 254-263 oder J. Bacteriol. 174 (1992) 6852-6856 beschrieben. Die spezifische Aktivität (U/mg) wird über die Menge an entstandenem Produkt definiert (nmol/min/mg Protein).

Man kann veränderte PRPP Synthetasen konstruieren, die nicht mehr durch Purine gehemmt werden. Es ist offensichtlich, daß die Überexpression solch deregulierter Enzyme den Purinstoffwechsel deutlich mehr verstärkt als die Überexpression der feedback inhibierten Enzyme. Veränderungen der Sequenz des AgKPR1 Gens können nach üblichen Methoden (z.B. Glover, D.M. und Hames, B.D. (1995) DNA cloning Vol. 1, IRL press) vorgenommen werden. Man kann

z.B. folgende Aminosäuren der PRPP Synthetase austauschen:

Das Codon, das für Leucin an der Position 131 kodiert, kann durch ein Codon ersetzt werden, das für Isoleucin kodiert. Das Codon, das für Histidin an der Position 196 kodiert, kann durch ein Codon ersetzt werden, das für Glutamin kodiert. Alle Enzyme, die einen dieser Aminosäureaustausche (L 131 oder H196Q) tragen, zeigen verringerte feedback Hem-

5 mung durch Purine. In Abbildung 2 ist dies gezeigt am Beispiel ADP.

Dies kann gezeigt werden, nachdem die entsprechenden Enzyme in *Ashbya gossypii* exprimiert wurden. Dies kann entsprechend Beispiel 11 durchgeführt werden.

Beispiel 14:

10

[0085] Varianten des AgGUA1 Genproduktes (IMP-Dehydrogenase), die nicht mehr feedback durch Purine oder Zwischenprodukte der Purinsynthese gehemmt werden.

Beispiel 15:

15

Auswirkung der Verstärkung und/oder der Optimierung von Purinstoffwechsel-Enzymen und deren Gene auf die Riboflavin-Produktion in *Ashbya gossypii*

[0086] Man kann den Ausgangsstamm *Ashbya gossypii* ATCC10895, in Vergleich mit davon abgeleiteten Klonen, die chromosomale Kopien von Genen, unter Kontrolle des GAP Promotors tragen (wie in Beispiel 11 beschrieben), im Schüttelkolben auf Riboflavin-Produktivität prüfen. Man kann dazu 300 ml Schüttelkolben, mit 20 ml YPD Medium (Sambrook, J. et al. (1989) Molecular cloning: a laboratory manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press) bei einer Inkubationstemperatur von 28°C einsetzen.

[0087] Nach 2 Tagen produziert der Kontrollstamm durchschnittlich 14,5 mg Riboflavin pro l Kulturbrühe. Stämme, die Gene für Purinstoffwechsel-Enzyme überexprimieren (wie z.B. in Beispiel 11 gezeigt) oder Gene für optimierte Purinstoffwechsel-Enzyme (z.B. wie in den Beispielen 12, 13 und 14) überexprimieren, produzieren mehr Riboflavin. So produziert der Stamm, der AgADE4D310VK333A (Beispiel 12) überexprimiert, in 2 Tagen durchschnittlich 45,4 mg Riboflavin pro l Kulturbrühe.

[0088] Der Stamm, der AgKPR1 unter dem GAP-Promotor überexprimiert, produziert statt 14 mg/l (wie der WT) 36 mg/l Riboflavin. Der Stamm, der AgKPR1H196Q unter dem GAP-Promotor überexprimiert, produziert 51 mg/l Riboflavin.

Abbildung 1:

[0089] Messung der Aktivität der Gln-PRPP-Amidotransferase aus *A. gossypii* und von veränderten Formen des Enzyms in Abhängigkeit der Konzentration von Adenosin-5'-Monophosphat (AMP) und Guanosin-5'-Monophosphat (GMP).

WT: Gln-PRPP-Amidotransferase

40 A418W: Gln-PRPP-Amidotransferase, Alanin an Position 418 ausgetauscht gegen Tryptophan.

K333A: Gln-PRPP-Amidotransferase, Lysin an Position 333 ausgetauscht gegen Alanin.

D310VK333A: Gln-PRPP-Amidotransferase, Aspartat an Position 310 ausgetauscht gegen Valin und Lysin an Position 333 ausgetauscht gegen Alanin.

45 Abbildung 2:

[0090] Messung der Aktivität der PRPP Synthetase aus *A. gossypii* und von veränderten Formen des Enzymes in Abhängigkeit der Konzentration von Adenosin-5'-Diphosphat (ADP)

50 WT: PRPP Synthetase

L131I: PRPP Synthetase, Leucin an Position 131 ausgetauscht gegen Isoleucin

H196Q: PRPP Synthetase, Histidin an Position 196 ausgetauscht gegen Glutamin

H196Q, L131I: PRPP Synthetase, Histidin an Position 196 ausgetauscht gegen Glutamin und Leucin an Position 131 ausgetauscht gegen Isoleucin

55

SEQUENZPROTOKOLL

(1) ALGEMEINE INFORMATION:

- 5 (i) ANMELDER:
- (A) NAME: BASF Aktiengesellschaft
 - (B) STRASSE: Carl-Bosch-Strasse 38
 - (C) ORT: Ludwigshafen
 - 10 (E) LAND: Bundesrepublik Deutschland
 - (F) POSTLEITZAHL: D-67056
 - (G) TELEPHON: 0621/6048526
 - (H) TELEFAX: 0621/6043123
 - (I) TELEX: 1762175170
- 15 (ii) ANMELDETITEL: Gene der Purinbiosynthese aus *Ashbya gossypii*
und deren Verwendung in der mikrobiellen
Riboflavinbiosynthese
- 20 (iii) ANZAHL DER SEQUENZEN: 13
- (iv) COMPUTER-LESBARE FORM:
- (A) DATENTRÄGER: Floppy disk
 - (B) COMPUTER: IBM PC compatible
 - 25 (C) BETRIEBSSYSTEM: PC-DOS/MS-DOS
 - (D) SOFTWARE: PatentIn Release #1.0, Version #1.25 (EPA)

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 1:

- 30 (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:
- (A) LÄNGE: 1911 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Einzel
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- 35 (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)
- (iii) HYPOTHETISCH: NEIN
- (iii) ANTISENSE: NEIN
- 40 (ix) MERKMALE:
- (A) NAME/SCHLÜSSEL: 5'UTR
 - (B) LAGE: 1..625
- 45 (ix) MERKMALE:
- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 - (B) LAGE: 626..1582
- (ix) MERKMALE:
- 50 (A) NAME/SCHLÜSSEL: 3'UTR
 - (B) LAGE: 1583..1911
- 55

EP 0 927 761 A2

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 1:

	GGTAGTCGCT CATCGACAGA CACAATCGCG TGTCTCTCT GAATCGTCCA TTGGGTGTCA	60
5	GCATCCTGAT CGCGGGCGGA TGGAAATGGGT AATCATTAGG AAACACCAAT GTCCCATGGT	120
	ATTGTCCGTC CTCGTATGGT GTCTCAGGAG GACCCGTGAT CACGTAGTGC CACACCAGGA	180
	TATTGTCTTC CTTTGGTGCT GCCACGATGT AGGGCGGGGG GTTCTCGGTC ATCATTTTGT	240
10	ACTCCTTTGA GAGCCGCTTG TACGCCTGTC TTGATGCCAT CTTGCCTACT ATTAGTTTCT	300
	CACCACTTCC CGCCAAACAA TCTGCACTTT ACGAGCGCTA TCTATCCCTC GGGTCGCTCT	360
	AGTTGATTAT TGGCGAAACT GATAGTTCAG GTACTTCCAT GATGCGGTCA TATCCACGTA	420
15	TGTGATCACG TGATCATCAG CCATGCTGCC AGCTCACGGG CCTGCCTACA CTATTGGAGG	480
	CTCTGTGAGT CATGATTTAT TGCATATCAA GCCCAGATAG TCGTTGGGGA TACTACCGTT	540
20	GCCGCGATGA GCTCCGATAT TAAGTTGTAG CCAAAAATTT TAACGGATGA CTTCTTAACA	600
	GTTATTGACG CCGCAATCCT ACGCC ATG TCG TCC AAT AGC ATA AAG CTG CTA	652
	Met Ser Ser Asn Ser Ile Lys Leu Leu	
	1 5	
25	GCA GGT AAC TCG CAC CCG GAC CTA GCT GAG AAG GTC TCC GTT CGC CTA	700
	Ala Gly Asn Ser His Pro Asp Leu Ala Glu Lys Val Ser Val Arg Leu	
	10 15 20 25	
30	GGT GTA CCA CTT TCG AAG ATT GGA GTG TAT CAC TAC TCT AAC AAA GAG	748
	Gly Val Pro Leu Ser Lys Ile Gly Val Tyr His Tyr Ser Asn Lys Glu	
	30 35 40	
	ACG TCA GTT ACT ATC GGC GAA AGT ATC CGT GAT GAA GAT GTC TAC ATC	796
35	Thr Ser Val Thr Ile Gly Glu Ser Ile Arg Asp Glu Asp Val Tyr Ile	
	45 50 55	
	ATC CAG ACA GGA ACG GGG GAG CAG GAA ATC AAC GAC TTC CTC ATG GAA	844
	Ile Gln Thr Gly Thr Gly Glu Gln Glu Ile Asn Asp Phe Leu Met Glu	
40	60 65 70	
	CTG CTC ATC ATG ATC CAT GCC TGC CGG TCA GCC TCT GCG CGG AAG ATC	892
	Leu Leu Ile Met Ile His Ala Cys Arg Ser Ala Ser Ala Arg Lys Ile	
	75 80 85	
45	ACA GCG GTT ATA CCA AAC TTC CCT TAC GCA AGA CAA GAC AAA AAG GAC	940
	Thr Ala Val Ile Pro Asn Phe Pro Tyr Ala Arg Gln Asp Lys Lys Asp	
	90 95 100 105	
50	AAG TCG CGA GCA CCG ATA ACT GCC AAG CTG GTG GCC AAG ATG CTA GAG	988
	Lys Ser Arg Ala Pro Ile Thr Ala Lys Leu Val Ala Lys Met Leu Glu	
	110 115 120	

55

EP 0 927 761 A2

	ACC GCG GGG TGC AAC CAC GTT ATC ACG ATG GAT TTG CAC GCG TCT CAA	1036
	Thr Ala Gly Cys Asn His Val Ile Thr Met Asp Leu His Ala Ser Gln	
	125 130 135	
5	ATT CAG GGT TTC TTC CAC ATT CCA GTG GAC AAC CTA TAT GCA GAG CCG	1084
	Ile Gln Gly Phe Phe His Ile Pro Val Asp Asn Leu Tyr Ala Glu Pro	
	140 145 150	
10	AAC ATC CTG CAC TAC ATC CAA CAT AAT GTG GAC TTC CAG AAT AGT ATG	1132
	Asn Ile Leu His Tyr Ile Gln His Asn Val Asp Phe Gln Asn Ser Met	
	155 160 165	
15	TTG GTC GCG CCA GAC GCG GGG TCG GCG AAG CGC ACG TCG ACG CTT TCG	1180
	Leu Val Ala Pro Asp Ala Gly Ser Ala Lys Arg Thr Ser Thr Leu Ser	
	170 175 180 185	
20	GAC AAG CTG AAT CTC AAC TTC GCG TTG ATC CAC AAA GAA CGG CAG AAG	1228
	Asp Lys Leu Asn Leu Asn Phe Ala Leu Ile His Lys Glu Arg Gln Lys	
	190 195 200	
	GCG AAC GAG GTC TCG CGG ATG GTG TTG GTG GGT GAT GTC GCC GAC AAG	1276
	Ala Asn Glu Val Ser Arg Met Val Leu Val Gly Asp Val Ala Asp Lys	
	205 210 215	
25	TCC TGT ATT ATT GTA GAC GAC ATG GCG GAC ACG TGC GGA ACG CTA GTG	1324
	Ser Cys Ile Ile Val Asp Asp Met Ala Asp Thr Cys Gly Thr Leu Val	
	220 225 230	
30	AAG GCC ACT GAC ACG CTG ATC GAA AAT TGT GCG AAA GAA GTG ATT GCC	1372
	Lys Ala Thr Asp Thr Leu Ile Glu Asn Cys Ala Lys Glu Val Ile Ala	
	235 240 245	
35	ATT GTG ACA CAC GGT ATA TTT TCT GGC GGC GCC CGC GAG AAG TTG CGC	1420
	Ile Val Thr His Gly Ile Phe Ser Gly Gly Ala Arg Glu Lys Leu Arg	
	250 255 260 265	
40	AAC AGC AAG CTG GCA CGG ATC GTA AGC ACA AAT ACG GTG CCA GTG GAC	1468
	Asn Ser Lys Leu Ala Arg Ile Val Ser Thr Asn Thr Val Pro Val Asp	
	270 275 280	
	CTC AAT CTA GAT ATC TAC CAC CAA ATT GAC ATT AGT GCC ATT TTG GCC	1516
	Leu Asn Leu Asp Ile Tyr His Gln Ile Asp Ile Ser Ala Ile Leu Ala	
	285 290 295	
45	GAG GCA ATT AGA AGG CTT CAC AAC GGG GAA AGT GTG TCG TAC CTG TTC	1564
	Glu Ala Ile Arg Arg Leu His Asn Gly Glu Ser Val Ser Tyr Leu Phe	
	300 305 310	
50	AAT AAC GCT GTC ATG TAGTGCTGTC AGTGGCAGAT GCATGATCGC TGGCCTAATT	1619
	Asn Asn Ala Val Met	
	315	
55	ATCTGTGTAA GTTGATACAA TGCAGTAAAT ACAGTACATA AACTGAATG TTTTTCACCTT	1679

AGGGGTGCTT TGTTGTTCTG ATAGCGTGTG TGCGAATTG GAGGTGAAAG TTGAACATCA 1739
 CGTAATGAAT ACAAACAAGA TTGCACATTA GGAAAAGCGA TAAATTATTT ATTATTTGCA 1799
 5 ACTGGCCTTT GAGCGTTTAA GCCTGAACAT TTTTGCCCTT TTGTTTGACC GTACCGTTAT 1859
 CACTCGTCCT TATATATGGC TATCCTTCTC TTCCGGAAC TCTTCGAGCG TA 1911

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 2:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 318 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 2:

Met Ser Ser Asn Ser Ile Lys Leu Leu Ala Gly Asn Ser His Pro Asp
 1 5 10 15
 Leu Ala Glu Lys Val Ser Val Arg Leu Gly Val Pro Leu Ser Lys Ile
 20 25 30
 25 Gly Val Tyr His Tyr Ser Asn Lys Glu Thr Ser Val Thr Ile Gly Glu
 35 40 45
 Ser Ile Arg Asp Glu Asp Val Tyr Ile Ile Gln Thr Gly Thr Gly Glu
 50 55 60
 30 Gln Glu Ile Asn Asp Phe Leu Met Glu Leu Leu Ile Met Ile His Ala
 65 70 75 80
 Cys Arg Ser Ala Ser Ala Arg Lys Ile Thr Ala Val Ile Pro Asn Phe
 35 85 90 95
 Pro Tyr Ala Arg Gln Asp Lys Lys Asp Lys Ser Arg Ala Pro Ile Thr
 100 105 110
 40 Ala Lys Leu Val Ala Lys Met Leu Glu Thr Ala Gly Cys Asn His Val
 115 120 125
 Ile Thr Met Asp Leu His Ala Ser Gln Ile Gln Gly Phe Phe His Ile
 130 135 140
 45 Pro Val Asp Asn Leu Tyr Ala Glu Pro Asn Ile Leu His Tyr Ile Gln
 145 150 155 160
 His Asn Val Asp Phe Gln Asn Ser Met Leu Val Ala Pro Asp Ala Gly
 165 170 175
 50 Ser Ala Lys Arg Thr Ser Thr Leu Ser Asp Lys Leu Asn Leu Asn Phe
 180 185 190

Ala Leu Ile His Lys Glu Arg Gln Lys Ala Asn Glu Val Ser Arg Met
 195 200 205

5 Val Leu Val Gly Asp Val Ala Asp Lys Ser Cys Ile Ile Val Asp Asp
 210 215 220

Met Ala Asp Thr Cys Gly Thr Leu Val Lys Ala Thr Asp Thr Leu Ile
 225 230 235 240

10 Glu Asn Cys Ala Lys Glu Val Ile Ala Ile Val Thr His Gly Ile Phe
 245 250 255

Ser Gly Gly Ala Arg Glu Lys Leu Arg Asn Ser Lys Leu Ala Arg Ile
 260 265 270

15 Val Ser Thr Asn Thr Val Pro Val Asp Leu Asn Leu Asp Ile Tyr His
 275 280 285

Gln Ile Asp Ile Ser Ala Ile Leu Ala Glu Ala Ile Arg Arg Leu His
 20 290 295 300

Asn Gly Glu Ser Val Ser Tyr Leu Phe Asn Asn Ala Val Met
 305 310 315

- 25 (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 3:
- (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:
 - (A) LÄNGE: 5369 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - 30 (C) STRANGFORM: Einzel
 - (D) TOPOLOGIE: linear
 - (ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)
 - 35 (iii) HYPOTHETISCH: NEIN
 - (iii) ANTISENSE: NEIN
 - (ix) MERKMALE:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: 5'UTR
 - 40 (B) LAGE: 1..54
 - (ix) MERKMALE:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 - 45 (B) LAGE: 55..1482
 - (ix) MERKMALE:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 - 50 (B) LAGE: 1767..3299
 - (ix) MERKMALE:
 - (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 - 55 (B) LAGE: 3588..4703

EP 0 927 761 A2

(ix) MERKMALE:

(A) NAME/SCHLÜSSEL: 3'UTR

(B) LAGE: 4704..5369

5

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 3:

	AAGCTTGACC TTGGCTGGCA CTTGAGTCGG CAGACAGGTG GACTAACCCG AGCA ATG	57
		Met
		1
10	GAT CGT GGT TGT AAA GGT ATC TCT TAT GTG CTC AGT GCA ATG GTT TTT	105
	Asp Arg Gly Cys Lys Gly Ile Ser Tyr Val Leu Ser Ala Met Val Phe	
	5 10 15	
15	CAC ATA ATA CCG ATT ACA TTT GAA ATA TCG ATG GTA TGT GGC ATA TTG	153
	His Ile Ile Pro Ile Thr Phe Glu Ile Ser Met Val Cys Gly Ile Leu	
	20 25 30	
20	ACA TAC CAG TTT GGT GCT TCC TTC GCT GCT ATA ACA TTC TCG ACT ATG	201
	Thr Tyr Gln Phe Gly Ala Ser Phe Ala Ala Ile Thr Phe Ser Thr Met	
	35 40 45	
25	CTT CTT TAC TCC ATC TTT ACT TTC AGA ACG ACG GCG TGG CGC ACA CGG	249
	Leu Leu Tyr Ser Ile Phe Thr Phe Arg Thr Thr Ala Trp Arg Thr Arg	
	50 55 60 65	
30	TTT AGG CGT GAT GCG AAC AAG GCT GAC AAT AAG GCC GCT AGT GTG GCA	297
	Phe Arg Arg Asp Ala Asn Lys Ala Asp Asn Lys Ala Ala Ser Val Ala	
	70 75 80	
35	TTG GAT TCC CTA ATA AAT TTT GAA GCT GTA AAG TAT TTC AAT AAC GAG	345
	Leu Asp Ser Leu Ile Asn Phe Glu Ala Val Lys Tyr Phe Asn Asn Glu	
	85 90 95	
40	AAG TAC CTT GCG GAC AAG TAT CAC ACA TCC TTG ATG AAG TAC CGG GAT	393
	Lys Tyr Leu Ala Asp Lys Tyr His Thr Ser Leu Met Lys Tyr Arg Asp	
	100 105 110	
45	TCC CAG ATA AAG GTC TCG CAA TCG CTG GCG TTT TTG AAC ACC GGC CAG	441
	Ser Gln Ile Lys Val Ser Gln Ser Leu Ala Phe Leu Asn Thr Gly Gln	
	115 120 125	
50	AAC CTA ATT TTT ACC ACT GCA CTG ACT GCA ATG ATG TAT ATG GCC TGT	489
	Asn Leu Ile Phe Thr Thr Ala Leu Thr Ala Met Met Tyr Met Ala Cys	
	130 135 140 145	
55	AAT GGT GTT ATG CAG GGC TCT CTT ACA GTG GGG GAT CTT GTG TTA ATT	537
	Asn Gly Val Met Gln Gly Ser Leu Thr Val Gly Asp Leu Val Leu Ile	
	150 155 160	
60	AAT CAA CTG GTA TTC CAG CTC TCC GTG CCA CTA AAC TTC CTT GGT AGC	585
	Asn Gln Leu Val Phe Gln Leu Ser Val Pro Leu Asn Phe Leu Gly Ser	
	165 170 175	

EP 0 927 761 A2

	GTC	TAC	CGT	GAT	CTC	AAG	CAG	TCT	CTG	ATA	GAT	ATG	GAA	TCT	TTA	TTT	633
	Val	Tyr	Arg	Asp	Leu	Lys	Gln	Ser	Leu	Ile	Asp	Met	Glu	Ser	Leu	Phe	
			180					185					190				
5	AAA	CTG	CAA	AAA	AAT	CAG	GTC	ACA	ATT	AAG	AAC	TCC	CCA	AAT	GCC	CAG	681
	Lys	Leu	Gln	Lys	Asn	Gln	Val	Thr	Ile	Lys	Asn	Ser	Pro	Asn	Ala	Gln	
			195				200					205					
10	AAC	CTA	CCA	ATA	CAC	AAA	CCG	TTG	GAT	ATT	CGC	TTT	GAA	AAT	GTT	ACG	729
	Asn	Leu	Pro	Ile	His	Lys	Pro	Leu	Asp	Ile	Arg	Phe	Glu	Asn	Val	Thr	
							215				220					225	
15	TTT	GGC	TAT	GAC	CCG	GAG	CGG	CGT	ATA	TTG	AAC	AAT	GTT	TCG	TTT	ACC	777
	Phe	Gly	Tyr	Asp	Pro	Glu	Arg	Arg	Ile	Leu	Asn	Asn	Val	Ser	Phe	Thr	
					230					235					240		
20	ATC	CCA	GCT	GGA	ATG	AAG	ACT	GCC	ATA	GTA	GGC	CCA	TCG	GGC	TCG	GGG	825
	Ile	Pro	Ala	Gly	Met	Lys	Thr	Ala	Ile	Val	Gly	Pro	Ser	Gly	Ser	Gly	
					245					250				255			
25	AAG	TCC	ACC	ATT	TTG	AAG	CTC	GTA	TTT	AGA	TTC	TAT	GAG	CCC	GAG	CAA	873
	Lys	Ser	Thr	Ile	Leu	Lys	Leu	Val	Phe	Arg	Phe	Tyr	Glu	Pro	Glu	Gln	
			260					265					270				
30	GGT	CGT	ATC	CTA	GTT	GGC	GGC	ACA	GAT	ATC	CGC	GAT	TTA	GAC	TTG	CTT	921
	Gly	Arg	Ile	Leu	Val	Gly	Gly	Thr	Asp	Ile	Arg	Asp	Leu	Asp	Leu	Leu	
			275					280				285					
35	TCT	TTA	CGG	AAG	GCT	ATC	GGT	GTC	GTG	CCC	CAA	GAT	ACT	CCT	CTC	TTC	969
	Ser	Leu	Arg	Lys	Ala	Ile	Gly	Val	Val	Pro	Gln	Asp	Thr	Pro	Leu	Phe	
							295				300					305	
40	AAT	GAC	ACA	ATC	TGG	GAG	AAT	GTT	AAA	TTC	GGC	AAT	ATC	AGT	TCC	TCT	1017
	Asn	Asp	Thr	Ile	Trp	Glu	Asn	Val	Lys	Phe	Gly	Asn	Ile	Ser	Ser	Ser	
					310					315					320		
45	GAC	GAT	GAG	ATT	CTC	AGG	GCC	ATA	GAA	AAA	GCT	CAA	CTC	ACG	AAG	CTA	1065
	Asp	Asp	Glu	Ile	Leu	Arg	Ala	Ile	Glu	Lys	Ala	Gln	Leu	Thr	Lys	Leu	
					325					330				335			
50	CTC	CAG	AAC	CTA	CCA	AAG	GGC	GCT	TCC	ACC	GTT	GTA	GGG	GAG	CGC	GGT	1113
	Leu	Gln	Asn	Leu	Pro	Lys	Gly	Ala	Ser	Thr	Val	Val	Gly	Glu	Arg	Gly	
					340					345				350			
55	TTG	ATG	ATC	AGC	GGA	GGT	GAG	AAA	CAA	AGG	CTT	GCT	ATT	GCT	CGT	GTG	1161
	Leu	Met	Ile	Ser	Gly	Gly	Glu	Lys	Gln	Arg	Leu	Ala	Ile	Ala	Arg	Val	
					355			360				365					
60	CTT	TTG	AAG	GAC	GCT	CCG	CTG	ATG	TTT	TTC	GAC	GAG	GCT	ACA	AGT	GCT	1209
	Leu	Leu	Lys	Asp	Ala	Pro	Leu	Met	Phe	Phe	Asp	Glu	Ala	Thr	Ser	Ala	
							375				380					385	

EP 0 927 761 A2

	CTG GAT ACA CAC ACA GAG CAG GCA CTC TTG CAC ACC ATT CAG CAG AAC	1257
	Leu Asp Thr His Thr Glu Gln Ala Leu Leu His Thr Ile Gln Gln Asn	
	390 395 400	
5	TTT TCT TCC AAT TCA AAG ACG AGC GTT TAC GTT GCC CAT AGA CTG CGC	1305
	Phe Ser Ser Asn Ser Lys Thr Ser Val Tyr Val Ala His Arg Leu Arg	
	405 410 415	
10	ACA ATC GCT GAT GCA GAT AAG ATC ATT GTT CTT GAA CAA GGT TCT GTC	1353
	Thr Ile Ala Asp Ala Asp Lys Ile Ile Val Leu Glu Gln Gly Ser Val	
	420 425 430	
15	CGC GAA GAG GGC ACA CAC AGC TCG CTG TTA GCG TCA CAA GGA TCC CTA	1401
	Arg Glu Glu Gly Thr His Ser Ser Leu Leu Ala Ser Gln Gly Ser Leu	
	435 440 445	
20	TAC CGG GGT CTG TGG GAT ATT CAG GAA AAC CTA ACG CTT CCG GAA CGG	1449
	Tyr Arg Gly Leu Trp Asp Ile Gln Glu Asn Leu Thr Leu Pro Glu Arg	
	450 455 460 465	
	CCT GAG CAG TCA ACC GGA TCT CAG CAT GCA TAGACGTCTG ACTAGAGATT	1499
	Pro Glu Gln Ser Thr Gly Ser Gln His Ala	
	470 475	
25	ATATAATAAC CCTCGAGCCA AAATTATACG GCGCTAACAA GTAAAAATTT TAGTTACTTT	1559
	TCTGACTTCT CTACGCTGAC TTCTCTACCC TTCTAACATA GTTAATTGAA GTAGTGGTTA	1619
30	ATGACGACTG CATTTTATTA TTGTCCACTT TGCATTAGAA GTACTAGTGC TTAAGCGCTC	1679
	TTTAGGCCCG TTTCTTCTTC TTGTTCAGGC CGCAAGGTAA AGGAAGCACC AACGGATTGC	1739
	TACCGCTGCT ATTCCTGCTC TCTCAAG ATG TGT GGC ATA TTA GGC GTT GTG	1790
	Met Cys Gly Ile Leu Gly Val Val	
35	1 5	
	CTA GCC GAT CAG TCG AAG GTG GTC GCC CCT GAG TTG TTT GAT GGC TCA	1838
	Leu Ala Asp Gln Ser Lys Val Val Ala Pro Glu Leu Phe Asp Gly Ser	
	10 15 20	
40	CTG TTC TTA CAG CAT CGC GGT CAA GAT GCT GCC GGG ATT GCT ACG TGC	1886
	Leu Phe Leu Gln His Arg Gly Gln Asp Ala Ala Gly Ile Ala Thr Cys	
	25 30 35 40	
45	GGC CCC GGT GGG CGC TTG TAC CAA TGT AAG GGC AAT GGT ATG GCA CGG	1934
	Gly Pro Gly Gly Arg Leu Tyr Gln Cys Lys Gly Asn Gly Met Ala Arg	
	45 50 55	
50	GAC GTG TTC ACG CAA GCT CGG ATG TCA GGG TTG GTT GGC TCT ATG GGG	1982
	Asp Val Phe Thr Gln Ala Arg Met Ser Gly Leu Val Gly Ser Met Gly	
	60 65 70	

55

EP 0 927 761 A2

	ATT GCA CAC CTG AGA TAT CCC ACT GCA GGC TCC AGT GCG AAC TCA GAA	2030
	Ile Ala His Leu Arg Tyr Pro Thr Ala Gly Ser Ser Ala Asn Ser Glu	
	75 80 85	
5	GCG CAG CCA TTC TAT GTG AAT AGT CCC TAC GGA ATT TGC ATG AGT CAT	2078
	Ala Gln Pro Phe Tyr Val Asn Ser Pro Tyr Gly Ile Cys Met Ser His	
	90 95 100	
10	AAT GGT AAT CTG GTG AAC ACG ATG TCT CTA CGT AGA TAT CTT GAT GAA	2126
	Asn Gly Asn Leu Val Asn Thr Met Ser Leu Arg Arg Tyr Leu Asp Glu	
	105 110 115 120	
15	GAC GTT CAC CGT CAT ATT AAC ACG GAC AGC GAT TCT GAG CTA CTG CTT	2174
	Asp Val His Arg His Ile Asn Thr Asp Ser Asp Ser Glu Leu Leu Leu	
	125 130 135	
20	AAT ATA TTT GCC GCG GAG CTG GAA AAG TAC AAC AAA TAT CGT GTG AAC	2222
	Asn Ile Phe Ala Ala Glu Leu Glu Lys Tyr Asn Lys Tyr Arg Val Asn	
	140 145 150	
25	AAC GAT GAT ATA TTT TGT GCT CTA GAG GGT GTT TAC AAA CGT TGT CGC	2270
	Asn Asp Asp Ile Phe Cys Ala Leu Glu Gly Val Tyr Lys Arg Cys Arg	
	155 160 165	
30	GGT GGC TAT GCT TGT GTT GGC ATG TTG GCG GGA TAT GGA TTG TTT GGT	2318
	Gly Gly Tyr Ala Cys Val Gly Met Leu Ala Gly Tyr Gly Leu Phe Gly	
	170 175 180	
35	TTC CGG GAC CCC AAT GGG ATC AGG CCG CTA TTG TTT GGT GAG CGC GTC	2366
	Phe Arg Asp Pro Asn Gly Ile Arg Pro Leu Leu Phe Gly Glu Arg Val	
	185 190 195 200	
40	AAC GAT GAC GGC ACC ATG GAC TAC ATG CTA GCG TCC GAA AGT GTC GTT	2414
	Asn Asp Asp Gly Thr Met Asp Tyr Met Leu Ala Ser Glu Ser Val Val	
	205 210 215	
45	CTT AAG GCC CAC CGC TTC CAA AAC ATA CGT GAT ATT CTT CCC GGC CAA	2462
	Leu Lys Ala His Arg Phe Gln Asn Ile Arg Asp Ile Leu Pro Gly Gln	
	220 225 230	
50	GCC GTC ATT ATC CCT AAA ACG TGC GGC TCC AGT CCA CCA GAG TTC CGG	2510
	Ala Val Ile Ile Pro Lys Thr Cys Gly Ser Ser Pro Pro Glu Phe Arg	
	235 240 245	
55	CAG GTA GTG CCA ATT GAG GCC TAC AAA CCG GAC TTG TTT GAG TAC GTG	2558
	Gln Val Val Pro Ile Glu Ala Tyr Lys Pro Asp Leu Phe Glu Tyr Val	
	250 255 260	
60	TAT TTC GCT CGT GCT GAC AGC GTT CTG GAC GGT ATT TCC GTT TAC CAT	2606
	Tyr Phe Ala Arg Ala Asp Ser Val Leu Asp Gly Ile Ser Val Tyr His	
	265 270 275 280	

EP 0 927 761 A2

	ACA CGC CTG TTG ATG GGT ATC AAA CTT GCC GAG AAC ATC AAA AAA CAG	2654
	Thr Arg Leu Leu Met Gly Ile Lys Leu Ala Glu Asn Ile Lys Lys Gln	
	285 290 295	
5	ATC GAT CTG GAC GAA ATT GAC GTT GTT GTA TCT GTT CCT GAC ACT GCA	2702
	Ile Asp Leu Asp Glu Ile Asp Val Val Val Ser Val Pro Asp Thr Ala	
	300 305 310	
10	CGT ACC TGT GCA TTG GAG TGT GCC AAC CAT TTA AAC AAA CCT TAT CGC	2750
	Arg Thr Cys Ala Leu Glu Cys Ala Asn His Leu Asn Lys Pro Tyr Arg	
	315 320 325	
15	GAA GGA TTT GTC AAG AAC AGA TAT GTT GGA AGA ACA TTT ATC ATG CCA	2798
	Glu Gly Phe Val Lys Asn Arg Tyr Val Gly Arg Thr Phe Ile Met Pro	
	330 335 340	
20	AAC CAA AAA GAG CGA GTA TCT TCT GTG CGC CGC AAG TTG AAC CCA ATG	2846
	Asn Gln Lys Glu Arg Val Ser Ser Val Arg Arg Lys Leu Asn Pro Met	
	345 350 355 360	
	AAC TCA GAA TTT AAA GAC AAG CGC GTG CTG ATT GTC GAT GAT TCC ATT	2894
	Asn Ser Glu Phe Lys Asp Lys Arg Val Leu Ile Val Asp Asp Ser Ile	
	365 370 375	
25	GTG CGA GGT ACC ACT TCC AAA GAG ATT GTT AAC ATG GCG AAG GAA TCC	2942
	Val Arg Gly Thr Thr Ser Lys Glu Ile Val Asn Met Ala Lys Glu Ser	
	380 385 390	
30	GGT GCT GCC AAG GTC TAC TTT GCC TCT GCA GCG CCA GCA ATT CGT TTC	2990
	Gly Ala Ala Lys Val Tyr Phe Ala Ser Ala Ala Pro Ala Ile Arg Phe	
	395 400 405	
35	AAT CAC ATC TAC GGG ATT GAC CTA GCA GAT ACT AAG CAG CTT GTC GCC	3038
	Asn His Ile Tyr Gly Ile Asp Leu Ala Asp Thr Lys Gln Leu Val Ala	
	410 415 420	
40	TAC AAC AGA ACT GTT GAA GAA ATC ACT GCG GAG CTG GGC TGT GAC CGC	3086
	Tyr Asn Arg Thr Val Glu Glu Ile Thr Ala Glu Leu Gly Cys Asp Arg	
	425 430 435 440	
	GTC ATC TAT CAA TCT TTG GAT GAC CTC ATC GAC TGT TGC AAG ACA GAC	3134
	Val Ile Tyr Gln Ser Leu Asp Asp Leu Ile Asp Cys Cys Lys Thr Asp	
	445 450 455	
45	ATC ATC TCA GAA TTT GAA GTT GGA GTT TTC ACT GGT AAC TAC GTT ACA	3182
	Ile Ile Ser Glu Phe Glu Val Gly Val Phe Thr Gly Asn Tyr Val Thr	
	460 465 470	
50	GGT GTT GAG GAT GTG TAC TTG CAG GAA TTA GAA CGT TGC CGC GCT CTT	3230
	Gly Val Glu Asp Val Tyr Leu Gln Glu Leu Glu Arg Cys Arg Ala Leu	
	475 480 485	

55

EP 0 927 761 A2

AAT AAC TCG AAT AAG GGT GAA GCG AAG GCC GAG GTT GAT ATT GGT CTC 3278
 Asn Asn Ser Asn Lys Gly Glu Ala Lys Ala Glu Val Asp Ile Gly Leu
 490 495 500
 5 TAC AAT TCT GCC GAC TAT TAGCGGCGCC GTTGCCGGCA TCCGGCCCCA 3326
 Tyr Asn Ser Ala Asp Tyr
 505 510
 10 TATATAGACT CATCGGGACC TAAAATAAGC CTTTACAGAT CATTATCTAC AAATATAGAT 3386
 ACCATTAAAA GCCTGACTTT CGACTTACTC CTAGCACACC CCGTTGTATC CCTGTGCTTG 3446
 CTTTCTTAAA TGCCGTTGGT TAGGCTTTGG ACTTAGCGTC CCGCCCATTT TCTAGCATGT 3506
 15 GCAGATCTAG CAAATTTGGC CTAAGACAAG AAGATCCATT CGGCACCCAC ATCCTGGAGC 3566
 CAGCACACAG TGGACCCAGA C ATG AGC AGC GGC AAT ATA TGG AAG CAA TTG 3617
 Met Ser Ser Gly Asn Ile Trp Lys Gln Leu
 1 5 10
 20 CTA GAG GAG AAT AGC GAA CAG CTG GAC CAG TCC ACT ACG GAG ACT TAC 3665
 Leu Glu Glu Asn Ser Glu Gln Leu Asp Gln Ser Thr Thr Glu Thr Tyr
 15 20 25
 25 GTG GTA TGC TGC GAG AAC GAA GAT TCC CTT AAC CAG TTT TTG CAA CAA 3713
 Val Val Cys Cys Glu Asn Glu Asp Ser Leu Asn Gln Phe Leu Gln Gln
 30 35 40
 30 TGT TGG CAG ATT GAC GAG GGC GAG AAG GTG ACC AAC CTG GAG CCG TTG 3761
 Cys Trp Gln Ile Asp Glu Gly Glu Lys Val Thr Asn Leu Glu Pro Leu
 45 50 55
 35 GGA TTC TTT ACA AAG GTG GTT TCG CGC GAC GAA GAG AAC CTC CGG CTC 3809
 Gly Phe Phe Thr Lys Val Val Ser Arg Asp Glu Glu Asn Leu Arg Leu
 60 65 70
 AAC GTA TAC TAT GCC AAG AGC CCA CTG GAT GCA CAG ACG CTG CAG TTT 3857
 Asn Val Tyr Tyr Ala Lys Ser Pro Leu Asp Ala Gln Thr Leu Gln Phe
 75 80 85 90
 40 CTG GGC GTG TTC CTG CGC CAA ATG GAA ACC TCA CAA ATA CGT TGG ATC 3905
 Leu Gly Val Phe Leu Arg Gln Met Glu Thr Ser Gln Ile Arg Trp Ile
 95 100 105
 45 TTC CTA CTG GAC TGG CTG CTA GAC GAT AAA CGA TTA TGG CTA CGT CAA 3953
 Phe Leu Leu Asp Trp Leu Leu Asp Asp Lys Arg Leu Trp Leu Arg Gln
 110 115 120
 50 CTG CGG AAC TCG TGG GCC GCC TTG GAG GAA GCG CAG GTG GCA CCC TTT 4001
 Leu Arg Asn Ser Trp Ala Ala Leu Glu Glu Ala Gln Val Ala Pro Phe
 125 130 135

55

EP 0 927 761 A2

	CCA GGT GGC GCT GTG GTG GTG GTC CTC AAC CCG AGT CAC GTG ACA CAA	4049
	Pro Gly Gly Ala Val Val Val Val Leu Asn Pro Ser His Val Thr Gln	
	140 145 150	
5	CTG GAG CGA AAC ACG ATG GTT TGG AAC TCC CGC CGT CTG GAC CTG GTA	4097
	Leu Glu Arg Asn Thr Met Val Trp Asn Ser Arg Arg Leu Asp Leu Val	
	155 160 165 170	
10	CAC CAG ACA CTG CGA GCT GCA TGC CTC AAC ACC GGC TCG GCG CTA GTT	4145
	His Gln Thr Leu Arg Ala Ala Cys Leu Asn Thr Gly Ser Ala Leu Val	
	175 180 185	
15	ACA CTT GAT CCT AAT ACT GCG CGC GAA GAC GTC ATG CAC ATA TGT GCG	4193
	Thr Leu Asp Pro Asn Thr Ala Arg Glu Asp Val Met His Ile Cys Ala	
	190 195 200	
20	CTG CTT GCG GGG CTG CCT ACA TCC CGT CCC GTC GCG ATG CTA AGC CTG	4241
	Leu Leu Ala Gly Leu Pro Thr Ser Arg Pro Val Ala Met Leu Ser Leu	
	205 210 215	
25	CAA AGT CTA TTC ATC CCC CAC GGT GCA GAT TCC ATC GGC AAG ATC TGC	4289
	Gln Ser Leu Phe Ile Pro His Gly Ala Asp Ser Ile Gly Lys Ile Cys	
	220 225 230	
30	ACC ATC GCG CCC GAG TTC CCT GTT GCT ACG GTG TTC GAC AAC GAT TTT	4337
	Thr Ile Ala Pro Glu Phe Pro Val Ala Thr Val Phe Asp Asn Asp Phe	
	235 240 245 250	
35	GTG AGC TCG ACA TTC GAG GCC GCA ATT GCT CCA GAA CTT ACT CCA GGA	4385
	Val Ser Ser Thr Phe Glu Ala Ala Ile Ala Pro Glu Leu Thr Pro Gly	
	255 260 265	
40	CCA CGT GTG CCA TCT GAC CAC CCA TGG CTA ACA GAG CCT ACC AAC CCC	4433
	Pro Arg Val Pro Ser Asp His Pro Trp Leu Thr Glu Pro Thr Asn Pro	
	270 275 280	
45	CCT TCG GAG GCA ACC GCT TGG CAT TTC GAT CTC CAA GGT CGC CTC GCT	4481
	Pro Ser Glu Ala Thr Ala Trp His Phe Asp Leu Gln Gly Arg Leu Ala	
	285 290 295	
50	ACC CTA TAC CGG CAT CTT GGT GAC TCT AAC AAG GCC ATA TCT GTT ACT	4529
	Thr Leu Tyr Arg His Leu Gly Asp Ser Asn Lys Ala Ile Ser Val Thr	
	300 305 310	
55	CAG CAC CGC TTC CAC AAG CCC CGC TCG GAA GAT TAT GCA TAC GAA TTC	4577
	Gln His Arg Phe His Lys Pro Arg Ser Glu Asp Tyr Ala Tyr Glu Phe	
	315 320 325 330	
60	GAG CTG CCG TCT AAG CAC CCT ACA ATA CGT GAC CTC ATA CGC TCT GCC	4625
	Glu Leu Pro Ser Lys His Pro Thr Ile Arg Asp Leu Ile Arg Ser Ala	
	335 340 345	

EP 0 927 761 A2

GCA GCC GAC TCA CCG AAC GAC GTC GCT GAC TCC ATC GAT GGG CTT ATG 4673
 Ala Ala Asp Ser Pro Asn Asp Val Ala Asp Ser Ile Asp Gly Leu Met
 350 355 360

5 GAT GGT ATC GTA CAA AGG AAT GTT CAT TGACGTCGAC .ACAAAAATTT 4720
 Asp Gly Ile Val Gln Arg Asn Val His
 365 370

10 TGTTACTGTT CTCTCGAGAA CTATTCTCAT CCAGTACTGA CATATTAGAA GGCGAAGTGA 4780
 ACTAGGATTT ATATAAAGTA GCCTTCAGGC AATTGCACAG GGTCTATTGA GTCGCTGCCG 4840
 TTCACGAGAG AGCCCAATAT ATCGAGGACT AATTGGTCAC TTTTGTTTTG CTATACTCAC 4900

15 CCTGTATTTG CTAATCATTT ATCCGCTTTG TCCAAGTGGT TGCGAAGATA TCGAGCCAGA 4960
 ACATTAGAAT CTGGTTTGCC GCATCCTAGA GCTGTCTCCA AGCCAGTTGA ACCGTTGCGG 5020
 GAGATTACCG CAGCCGGTTT GATCAGAGTA CTGGTGACTG CCAGCACCCA CGTTTGTGAC 5080

20 TTATAAATAT ACGCCCTGTG GAGCCATAGC CATTGGCATA AAGAGAAGAG CACCCCGTGC 5140
 CACGATGCAG ACACTTCCGG TGTACCCAGC GTCACAGACT GCGTCGCCCTA CGAAGCGTGA 5200
 ACTTGACGCG GCGCCCTCGG TGCCGCAGGA CGGCGCCCGG CTGCCTGCGC AGCTCACTTT 5260

25 AGTGACGCCC CCAGAACCTG ATATCCAGAA GAAGTCAGTG CGATCTCAGG TCGCGCGTTT 5320
 AAGCATCTCG GAGACAGATG TAGTGAAGAG TGATATCGTG GCTAAGCTT 5369

30 (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 4:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:
 (A) LÄNGE: 475 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (D) TOPOLOGIE: linear

35 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 4:

40 Met Asp Arg Gly Cys Lys Gly Ile Ser Tyr Val Leu Ser Ala Met Val
 1 5 10 15
 Phe His Ile Ile Pro Ile Thr Phe Glu Ile Ser Met Val Cys Gly Ile
 20 25 30

45 Leu Thr Tyr Gln Phe Gly Ala Ser Phe Ala Ala Ile Thr Phe Ser Thr
 35 40 45

Met Leu Leu Tyr Ser Ile Phe Thr Phe Arg Thr Thr Ala Trp Arg Thr
 50 55 60

55 Arg Phe Arg Arg Asp Ala Asn Lys Ala Asp Asn Lys Ala Ala Ser Val
 65 70 75 80

EP 0 927 761 A2

	Ala	Leu	Asp	Ser	Leu	Ile	Asn	Phe	Glu	Ala	Val	Lys	Tyr	Phe	Asn	Asn	
					85					90					95		
5	Glu	Lys	Tyr	Leu	Ala	Asp	Lys	Tyr	His	Thr	Ser	Leu	Met	Lys	Tyr	Arg	
				100					105					110			
	Asp	Ser	Gln	Ile	Lys	Val	Ser	Gln	Ser	Leu	Ala	Phe	Leu	Asn	Thr	Gly	
			115					120					125				
10	Gln	Asn	Leu	Ile	Phe	Thr	Thr	Ala	Leu	Thr	Ala	Met	Met	Tyr	Met	Ala	
		130					135					140					
	Cys	Asn	Gly	Val	Met	Gln	Gly	Ser	Leu	Thr	Val	Gly	Asp	Leu	Val	Leu	
15	145					150					155					160	
	Ile	Asn	Gln	Leu	Val	Phe	Gln	Leu	Ser	Val	Pro	Leu	Asn	Phe	Leu	Gly	
					165					170					175		
	Ser	Val	Tyr	Arg	Asp	Leu	Lys	Gln	Ser	Leu	Ile	Asp	Met	Glu	Ser	Leu	
20				180					185					190			
	Phe	Lys	Leu	Gln	Lys	Asn	Gln	Val	Thr	Ile	Lys	Asn	Ser	Pro	Asn	Ala	
			195					200					205				
25	Gln	Asn	Leu	Pro	Ile	His	Lys	Pro	Leu	Asp	Ile	Arg	Phe	Glu	Asn	Val	
		210					215					220					
	Thr	Phe	Gly	Tyr	Asp	Pro	Glu	Arg	Arg	Ile	Leu	Asn	Asn	Val	Ser	Phe	
	225					230				235						240	
30	Thr	Ile	Pro	Ala	Gly	Met	Lys	Thr	Ala	Ile	Val	Gly	Pro	Ser	Gly	Ser	
					245					250					255		
	Gly	Lys	Ser	Thr	Ile	Leu	Lys	Leu	Val	Phe	Arg	Phe	Tyr	Glu	Pro	Glu	
35				260					265					270			
	Gln	Gly	Arg	Ile	Leu	Val	Gly	Gly	Thr	Asp	Ile	Arg	Asp	Leu	Asp	Leu	
			275					280					285				
	Leu	Ser	Leu	Arg	Lys	Ala	Ile	Gly	Val	Val	Pro	Gln	Asp	Thr	Pro	Leu	
40			290				295					300					
	Phe	Asn	Asp	Thr	Ile	Trp	Glu	Asn	Val	Lys	Phe	Gly	Asn	Ile	Ser	Ser	
	305					310					315					320	
45	Ser	Asp	Asp	Glu	Ile	Leu	Arg	Ala	Ile	Glu	Lys	Ala	Gln	Leu	Thr	Lys	
				325						330					335		
	Leu	Leu	Gln	Asn	Leu	Pro	Lys	Gly	Ala	Ser	Thr	Val	Val	Gly	Glu	Arg	
				340					345					350			
50	Gly	Leu	Met	Ile	Ser	Gly	Gly	Glu	Lys	Gln	Arg	Leu	Ala	Ile	Ala	Arg	
			355					360					365				
55																	

EP 0 927 761 A2

Val Leu Leu Lys Asp Ala Pro Leu Met Phe Phe Asp Glu Ala Thr Ser
370 375 380

Ala Leu Asp Thr His Thr Glu Gln Ala Leu Leu His Thr Ile Gln Gln
385 390 395 400

Asn Phe Ser Ser Asn Ser Lys Thr Ser Val Tyr Val Ala His Arg Leu
405 410 415

Arg Thr Ile Ala Asp Ala Asp Lys Ile Ile Val Leu Glu Gln Gly Ser
420 425 430

Val Arg Glu Glu Gly Thr His Ser Ser Leu Leu Ala Ser Gln Gly Ser
435 440 445

Leu Tyr Arg Gly Leu Trp Asp Ile Gln Glu Asn Leu Thr Leu Pro Glu
450 455 460

Arg Pro Glu Gln Ser Thr Gly Ser Gln His Ala
465 470 475

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 5:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 510 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 5:

Met Cys Gly Ile Leu Gly Val Val Leu Ala Asp Gln Ser Lys Val Val
1 5 10 15

Ala Pro Glu Leu Phe Asp Gly Ser Leu Phe Leu Gln His Arg Gly Gln
20 25 30

Asp Ala Ala Gly Ile Ala Thr Cys Gly Pro Gly Gly Arg Leu Tyr Gln
35 40 45

Cys Lys Gly Asn Gly Met Ala Arg Asp Val Phe Thr Gln Ala Arg Met
50 55 60

Ser Gly Leu Val Gly Ser Met Gly Ile Ala His Leu Arg Tyr Pro Thr
65 70 75 80

Ala Gly Ser Ser Ala Asn Ser Glu Ala Gln Pro Phe Tyr Val Asn Ser
85 90 95

Pro Tyr Gly Ile Cys Met Ser His Asn Gly Asn Leu Val Asn Thr Met
100 105 110

EP C 927 761 A2

	Ser	Leu	Arg	Arg	Tyr	Leu	Asp	Glu	Asp	Val	His	Arg	His	Ile	Asn	Thr	
5	Asp	Ser	Asp	Ser	Glu	Leu	Leu	Leu	Asn	Ile	Phe	Ala	Ala	Glu	Leu	Glu	
	Lys	Tyr	Asn	Lys	Tyr	Arg	Val	Asn	Asn	Asp	Asp	Ile	Phe	Cys	Ala	Leu	
10	Glu	Gly	Val	Tyr	Lys	Arg	Cys	Arg	Gly	Gly	Tyr	Ala	Cys	Val	Gly	Met	
	Leu	Ala	Gly	Tyr	Gly	Leu	Phe	Gly	Phe	Arg	Asp	Pro	Asn	Gly	Ile	Arg	
15																	
	Pro	Leu	Leu	Phe	Gly	Glu	Arg	Val	Asn	Asp	Asp	Gly	Thr	Met	Asp	Tyr	
20	Met	Leu	Ala	Ser	Glu	Ser	Val	Val	Leu	Lys	Ala	His	Arg	Phe	Gln	Asn	
	Ile	Arg	Asp	Ile	Leu	Pro	Gly	Gln	Ala	Val	Ile	Ile	Pro	Lys	Thr	Cys	
25	Gly	Ser	Ser	Pro	Pro	Glu	Phe	Arg	Gln	Val	Val	Pro	Ile	Glu	Ala	Tyr	
	Lys	Pro	Asp	Leu	Phe	Glu	Tyr	Val	Tyr	Phe	Ala	Arg	Ala	Asp	Ser	Val	
30	Leu	Asp	Gly	Ile	Ser	Val	Tyr	His	Thr	Arg	Leu	Leu	Met	Gly	Ile	Lys	
	Leu	Ala	Glu	Asn	Ile	Lys	Lys	Gln	Ile	Asp	Leu	Asp	Glu	Ile	Asp	Val	
35																	
	Val	Val	Ser	Val	Pro	Asp	Thr	Ala	Arg	Thr	Cys	Ala	Leu	Glu	Cys	Ala	
40	Asn	His	Leu	Asn	Lys	Pro	Tyr	Arg	Glu	Gly	Phe	Val	Lys	Asn	Arg	Tyr	
	Val	Gly	Arg	Thr	Phe	Ile	Met	Pro	Asn	Gln	Lys	Glu	Arg	Val	Ser	Ser	
45	Val	Arg	Arg	Lys	Leu	Asn	Pro	Met	Asn	Ser	Glu	Phe	Lys	Asp	Lys	Arg	
	Val	Leu	Ile	Val	Asp	Asp	Ser	Ile	Val	Arg	Gly	Thr	Thr	Ser	Lys	Glu	
50	Ile	Val	Asn	Met	Ala	Lys	Glu	Ser	Gly	Ala	Ala	Lys	Val	Tyr	Phe	Ala	

55

EP 0 927 761 A2

5 Ser Ala Ala Pro Ala Ile Arg Phe Asn His Ile Tyr Gly Ile Asp Leu
 405 410 415
 Ala Asp Thr Lys Gln Leu Val Ala Tyr Asn Arg Thr Val Glu Glu Ile
 420 425 430
 Thr Ala Glu Leu Gly Cys Asp Arg Val Ile Tyr Gln Ser Leu Asp Asp
 435 440 445
 10 Leu Ile Asp Cys Cys Lys Thr Asp Ile Ile Ser Glu Phe Glu Val Gly
 450 455 460
 Val Phe Thr Gly Asn Tyr Val Thr Gly Val Glu Asp Val Tyr Leu Gln
 465 470 475 480
 15 Glu Leu Glu Arg Cys Arg Ala Leu Asn Asn Ser Asn Lys Gly Glu Ala
 485 490 495
 Lys Ala Glu Val Asp Ile Gly Leu Tyr Asn Ser Ala Asp Tyr
 500 505 510
 20

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 6:

25 (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:
 (A) LÄNGE: 371 Aminosäuren
 (B) ART: Aminosäure
 (D) TOPOLOGIE: linear

30 (ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 6:

35 Met Ser Ser Gly Asn Ile Trp Lys Gln Leu Leu Glu Glu Asn Ser Glu
 1 5 10 15
 Gln Leu Asp Gln Ser Thr Thr Glu Thr Tyr Val Val Cys Cys Glu Asn
 20 25 30
 40 Glu Asp Ser Leu Asn Gln Phe Leu Gln Gln Cys Trp Gln Ile Asp Glu
 35 40 45
 Gly Glu Lys Val Thr Asn Leu Glu Pro Leu Gly Phe Phe Thr Lys Val
 50 55 60
 45 Val Ser Arg Asp Glu Glu Asn Leu Arg Leu Asn Val Tyr Tyr Ala Lys
 65 70 75 80
 Ser Pro Leu Asp Ala Gln Thr Leu Gln Phe Leu Gly Val Phe Leu Arg
 85 90 95
 50 Gln Met Glu Thr Ser Gln Ile Arg Trp Ile Phe Leu Leu Asp Trp Leu
 100 105 110
 55

EP 0 927 761 A2

Leu Asp Asp Lys Arg Leu Trp Leu Arg Gln Leu Arg Asn Ser Trp Ala
 115 120 125
 5 Ala Leu Glu Glu Ala Gln Val Ala Pro Phe Pro Gly Gly Ala Val Val
 130 135 140
 Val Val Leu Asn Pro Ser His Val Thr Gln Leu Glu Arg Asn Thr Met
 145 150 155 160
 10 Val Trp Asn Ser Arg Arg Leu Asp Leu Val His Gln Thr Leu Arg Ala
 165 170 175
 Ala Cys Leu Asn Thr Gly Ser Ala Leu Val Thr Leu Asp Pro Asn Thr
 15 180 185 190
 Ala Arg Glu Asp Val Met His Ile Cys Ala Leu Leu Ala Gly Leu Pro
 195 200 205
 20 Thr Ser Arg Pro Val Ala Met Leu Ser Leu Gln Ser Leu Phe Ile Pro
 210 215 220
 His Gly Ala Asp Ser Ile Gly Lys Ile Cys Thr Ile Ala Pro Glu Phe
 225 230 235 240
 25 Pro Val Ala Thr Val Phe Asp Asn Asp Phe Val Ser Ser Thr Phe Glu
 245 250 255
 Ala Ala Ile Ala Pro Glu Leu Thr Pro Gly Pro Arg Val Pro Ser Asp
 30 260 265 270
 His Pro Trp Leu Thr Glu Pro Thr Asn Pro Pro Ser Glu Ala Thr Ala
 275 280 285
 35 Trp His Phe Asp Leu Gln Gly Arg Leu Ala Thr Leu Tyr Arg His Leu
 290 295 300
 Gly Asp Ser Asn Lys Ala Ile Ser Val Thr Gln His Arg Phe His Lys
 305 310 315 320
 40 Pro Arg Ser Glu Asp Tyr Ala Tyr Glu Phe Glu Leu Pro Ser Lys His
 325 330 335
 Pro Thr Ile Arg Asp Leu Ile Arg Ser Ala Ala Ala Asp Ser Pro Asn
 45 340 345 350
 Asp Val Ala Asp Ser Ile Asp Gly Leu Met Asp Gly Ile Val Gln Arg
 355 360 365
 50 Asn Val His
 370

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 7:

55

EP 0 927 761 A2

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 3616 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iii) ANTISENSE: NEIN

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: 5'UTR
- (B) LAGE: 1..863

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LAGE: 864..1316

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: intron
- (B) LAGE: 1317..1477

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
- (B) LAGE: 1478..2592

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: 3'UTR
- (B) LAGE: 2593..3616

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 7:

```

GGGCCCCGGTG CCAGCTCGCC AGGTGCGGAC TCGCGCTCGG GCTGTGGGCG CTCTACCTGC      60
TGCTGCTCGG CAGCTGCCTG ACGCGCGCGT ACGAGCTGTC GGATCTCGAA AACCTGGAAT      120
CCGATTACTA CAGCTACGTG CTGGATGTGA ACTTCGCGCT GCTGAGCGCC ATGAGCGCGA      180
CCGGCCTCGC GATGGGCGCC GTGAGCGGCT CCCTCGGGAG CGCGCCGGTG CTCGCGCAGT      240
GGCCGGCAGC GATCTGGGCC GTGCGCTTCC TGC GCGCCGC GGGCTATGTC GCGATAGTCC      300
TAATCCTGCC GTTCTGTGCC GTCGTCGCAT TCCTGCAGCC GCTCTGCGAG CGCGCGCTGG      360
CGCTGTTCCC GTTTGTGCGC GCGTGGGGCA TGGACGCGT GTTCAACTTC CTGCTGCTCT      420
CCGCCGTGCT CTGGACTGTA TTCCTGGCCG TTCGCTGCT CCGCGCCGTC TACAGACTGC      480
TGCGCTGGCT GGTGCGTCTT TTGGTCCGCC TGGCAGCCT GCTGCTGCGA GGC GCGCCGTC      540
GGACGCCTGC GGC GCGCCCC GAGGAGCCCG TCTAGCGTGC GCGCGTTCTA GGC CCGCTGAC      600
AGCTCCTACC TGGTGCTGGC CGCCGGTAGG GCTCGCATCG TGCGGCGCAG GCCCATTGCT      660

```

EP 0 927 761 A2

TTTTGGCCCC CGCTGGATCA TCGTTTCTTT TACGTGAAAA GTTTCAGCG ATGAGCTGCA 720

GTATAAATAG GTTTTCTAGA TGCGCCAAAT CCCAGCTGGG TTTACCGGCG TCTGTTCTGGG 780

5 ATAGTTACTT GATGGATGGG TCAACTTGAG AGCTTGGGTT TAGTGTTGAC TCCTTCTCTT 840

CATAGCACGC CGAACAAAGC GCA ATG ACT TAC AGA GAC GCA GCC ACG GCA 890

Met Thr Tyr Arg Asp Ala Ala Thr Ala

1 5

10 CTG GAG CAC CTG GCG ACG TAC GCC GAG AAG GAC GGG CTG TCC GTG GAG 938

Leu Glu His Leu Ala Thr Tyr Ala Glu Lys Asp Gly Leu Ser Val Glu

10 15 20 25

15 CAG TTG ATG GAC TCC AAG ACG CGG GGC GGG TTG ACG TAC AAC GAC TTC 986

Gln Leu Met Asp Ser Lys Thr Arg Gly Gly Leu Thr Tyr Asn Asp Phe

30 35 40

20 CTG GTC TTG CCG GGC AAG ATC GAC TTC CCA TCG TCG GAG GTG GTG CTG 1034

Leu Val Leu Pro Gly Lys Ile Asp Phe Pro Ser Ser Glu Val Val Leu

45 50 55

25 TCG TCG CGC CTG ACC AAG AAG ATC ACC TTG AAC GCG CCG TTT GTG TCG 1082

Ser Ser Arg Leu Thr Lys Lys Ile Thr Leu Asn Ala Pro Phe Val Ser

60 65 70

30 TCG CCG ATG GAC ACG GTG ACG GAG GCC GAC ATG GCG ATC CAC ATG GCG 1130

Ser Pro Met Asp Thr Val Thr Glu Ala Asp Met Ala Ile His Met Ala

75 80 85

35 CTC CTG GGC GGC ATC GGG ATC ATC CAC CAC AAC TGC ACT GCG GAG GAG 1178

Leu Leu Gly Gly Ile Gly Ile Ile His His Asn Cys Thr Ala Glu Glu

90 95 100 105

40 CAG GCG GAG ATG GTG CGC CGG GTC AAG AAG TAC GAA AAC GGG TTC ATC 1226

Gln Ala Glu Met Val Arg Arg Val Lys Lys Tyr Glu Asn Gly Phe Ile

110 115 120

45 AAC GCC CCC GTG GTC GTG GGG CCG GAC GCG ACG GTG GCG GAC GTG CGC 1274

Asn Ala Pro Val Val Val Gly Pro Asp Ala Thr Val Ala Asp Val Arg

125 130 135

50 CGG ATG AAG AAC GAG TTT GGG TTT GCA GGA TTT CCT GTG ACA 1316

Arg Met Lys Asn Glu Phe Gly Phe Ala Gly Phe Pro Val Thr

140 145 150

55 GGTATGTTAG AGTGGCACGC GGGGCTGCAC GCTGGGATGA TGATCATAAA TCAATAACTT 1376

TCGTTCTACT GACTGCGATC AAACGATCGT GTAGACACCT TTTACTCTGA CCGCAGACGT 1436

GCAGCGCCTT TTTGGCAGGA ACATGTACTA ACACATCAGC A GAT GAT GGC AAG 1489

Asp Asp Gly Lys

1

EP 0 927 761 A2

	CCG ACC GGG AAG CTG CAG GGG ATC ATC ACG TCC CGT GAC ATC CAG TTT	1537
	Pro Thr Gly Lys Leu Gln Gly Ile Ile Thr Ser Arg Asp Ile Gln Phe	
	5 10 15 20	
5	GTC GAG GAC GAG ACC CTG CTT GTG TCT GAG ATC ATG ACC AAG GAC GTC	1585
	Val Glu Asp Glu Thr Leu Leu Val Ser Glu Ile Met Thr Lys Asp Val	
	25 30 35	
10	ATC ACT GGG AAG CAG GGC ATC AAC CTC GAG GAG GCG AAC CAG ATC CTG	1633
	Ile Thr Gly Lys Gln Gly Ile Asn Leu Glu Glu Ala Asn Gln Ile Leu	
	40 45 50	
15	AAG AAC ACC AAG AAG GGC AAG CTG CCA ATT GTG GAC GAG GCG GGC TGC	1681
	Lys Asn Thr Lys Lys Gly Lys Leu Pro Ile Val Asp Glu Ala Gly Cys	
	55 60 65	
20	CTG GTG TCC ATG CTT TCG AGA ACT GAC TTG ATG AAG AAC CAG TCC TAC	1729
	Leu Val Ser Met Leu Ser Arg Thr Asp Leu Met Lys Asn Gln Ser Tyr	
	70 75 80	
25	CCA TTG GCC TCC AAG TCT GCC GAC ACC AAG CAG CTG CTC TGT GGT GCT	1777
	Pro Leu Ala Ser Lys Ser Ala Asp Thr Lys Gln Leu Leu Cys Gly Ala	
	85 90 95 100	
30	GCG ATC GGC ACC ATC GAC GCG GAC AGG CAG AGA CTG GCG ATG CTG GTC	1825
	Ala Ile Gly Thr Ile Asp Ala Asp Arg Gln Arg Leu Ala Met Leu Val	
	105 110 115	
35	GAG GCC GGT CTG GAC GTT GTT GTG CTA GAC TCC TCG CAG GGT AAC TCG	1873
	Glu Ala Gly Leu Asp Val Val Val Leu Asp Ser Ser Gln Gly Asn Ser	
	120 125 130	
40	GTC TTC CAG ATC AAC ATG ATC AAG TGG ATC AAG GAG ACC TTC CCA GAC	1921
	Val Phe Gln Ile Asn Met Ile Lys Trp Ile Lys Glu Thr Phe Pro Asp	
	135 140 145	
45	CTG CAG GTC ATT GCT GGC AAC GTG GTC ACC AGA GAG CAG GCT GCC AGC	1969
	Leu Gln Val Ile Ala Gly Asn Val Val Thr Arg Glu Gln Ala Ala Ser	
	150 155 160	
50	TTG ATC CAC GCC GGC GCA GAC GGG TTG CGT ATC GGT ATG GGC TCT GGC	2017
	Leu Ile His Ala Gly Ala Asp Gly Leu Arg Ile Gly Met Gly Ser Gly	
	165 170 175 180	
55	TCC ATC TGT ATC ACT CAG GAG GTG ATG GCC TGT GGT AGA CCA CAG GGT	2065
	Ser Ile Cys Ile Thr Gln Glu Val Met Ala Cys Gly Arg Pro Gln Gly	
	185 190 195	
60	ACC GCT GTC TAC AAC GTC ACG CAG TTC GCC AAC CAG TTT GGT GTG CCA	2113
	Thr Ala Val Tyr Asn Val Thr Gln Phe Ala Asn Gln Phe Gly Val Pro	
	200 205 210	

EP 0 927 761 A2

TGT ATT GCT GAC GGT GGT GTC CAG AAC ATC GGG CAC ATT ACC AAA GCT 2161
 Cys Ile Ala Asp Gly Gly Val Gln Asn Ile Gly His Ile Thr Lys Ala
 215 220 225
 5 ATC GCT CTT GGC GCG TCC ACC GTC ATG ATG GGC GGT ATG CTG GCA GGC 2209
 Ile Ala Leu Gly Ala Ser Thr Val Met Met Gly Gly Met Leu Ala Gly
 230 235 240
 10 ACT ACA GAG TCT CCA GGC GAG TAC TTC TTC AGG GAC GGG AAG AGA CTG 2257
 Thr Thr Glu Ser Pro Gly Glu Tyr Phe Phe Arg Asp Gly Lys Arg Leu
 245 250 255 260
 15 AAG ACC TAC AGA GGT ATG GGC TCC ATC GAC GCC ATG CAA AAG ACT GAT 2305
 Lys Thr Tyr Arg Gly Met Gly Ser Ile Asp Ala Met Gln Lys Thr Asp
 265 270 275
 20 GTC AAG GGT AAC GCC GCT ACC TCC CGT TAC TTC TCT GAG TCT GAC AAG 2353
 Val Lys Gly Asn Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Phe Ser Glu Ser Asp Lys
 280 285 290
 GTT CTG GTC GCT CAG GGT GTT ACT GGT TCT GTG ATC GAC AAG GGC TCC 2401
 Val Leu Val Ala Gln Gly Val Thr Gly Ser Val Ile Asp Lys Gly Ser
 295 300 305
 25 ATC AAG AAG TAC ATT CCA TAT CTG TAC AAT GGT CTA CAG CAC TCG TGC 2449
 Ile Lys Lys Tyr Ile Pro Tyr Leu Tyr Asn Gly Leu Gln His Ser Cys
 310 315 320
 30 CAG GAT ATC GGT GTG CGC TCT CTA GTG GAG TTC AGA GAG AAG GTG GAC 2497
 Gln Asp Ile Gly Val Arg Ser Leu Val Glu Phe Arg Glu Lys Val Asp
 325 330 335 340
 35 TCT GGC TCG GTC AGA TTT GAG TTC AGA ACT CCA TCT GCC CAG TTG GAG 2545
 Ser Gly Ser Val Arg Phe Glu Phe Arg Thr Pro Ser Ala Gln Leu Glu
 345 350 355
 40 GGT GGT GTG CAC AAC TTG CAC TCC TAC GAG AAG CGC CTA TTT GACTGAGTGC 2597
 Gly Gly Val His Asn Leu His Ser Tyr Glu Lys Arg Leu Phe Asp
 360 365 370
 CACTAGGCCC AACTATAGA AGTGGATCCG GGCGCGATGG CACCCATACT TTTATATTAT 2657
 GTTGATTGAT GTACGTAAAC GATAGATATA ATAACAGACG CGGCATCTCA TTTGTATGCA 2717
 45 ATATATCTGG AACATGGTTA TGCGTACTCA ACTGTATGTA CTACTTTATA TACACAGCTC 2777
 TGGGACACTT GGTGAGATAT ATGTTTCATT ATGTATGCCT CGCTATCGAA AGGTCTGGCA 2837
 TTATGGGCTA CTGGGTCTAA GAGTCATGGC TTATGAGTAT TTATTTATTT ATTTCTCTTC 2897
 50 CTTTTCATTA AACTCCTCGA GCTTCTTTCT GTAATACTGC TCTCTAGACT TCTCCACATC 2957
 TGCTAATGAT GGTGGAAGTC GTTCGTTTTCT CAAATCCGCT CTACGAGCGC GCTCGAAGTT 3017
 55

EP 0 927 761 A2

AGACAGCGCC TCGTTCAGAC CTTCAGACCC GCGTGACAGC GCTCCACGAG GCAGCACGCC 3077
 AGAATTCATT GTTTTTAGGT ACTGCACCTT ATCGCTCTCT TCTCTCAACA CGCTATACAT 3137
 TCGGGAAACC TTGGCAATCG CCAATATTTT ACTGCGTAGT GCACGCCGTT TTGCATCATC 3197
 GTCCAGAATA GACCGTTTTT TCTTCGATTT CTTGGAGCCA GGTATAACAG TTACAACCTG 3257
 CTCAGTGTTT TTGGACTTCA ATGTAGCACC TAAGTCTCTC CTTATAACAA AAGTCTCTTC 3317
 CTCCAATTCT TCTTCAGTAC AAATGTTTAA TATCGAAACC AACATTTTCAG TCACTTTCTC 3377
 GCCAACAAAT GGCAAAGACC AGGTGAATAC GTCCATGAAA TTCGGTAACC AATACGGATG 3437
 CTGTGACATG TTAAATTGTC TAATGTTTCAT AACGTTATCC GAGTATTTTA GGACCGCGGC 3497
 CTTGTTCTTG TAAGTGTTCA AGTAGTTGGG TGCCTGAAC AACGTAAGTA AACTAGGAAA 3557
 GCCCAGATTC TTGGTATTCT TGTACATTCT GTAGCCCTGA TCTTGGGCTT CGTGGGCCC 3616

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 8:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 151 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 8:

Met Thr Tyr Arg Asp Ala Ala Thr Ala Leu Glu His Leu Ala Thr Tyr
 1 5 10 15
 Ala Glu Lys Asp Gly Leu Ser Val Glu Gln Leu Met Asp Ser Lys Thr
 20 25 30
 Arg Gly Gly Leu Thr Tyr Asn Asp Phe Leu Val Leu Pro Gly Lys Ile
 35 40 45
 Asp Phe Pro Ser Ser Glu Val Val Leu Ser Ser Arg Leu Thr Lys Lys
 50 55 60
 Ile Thr Leu Asn Ala Pro Phe Val Ser Ser Pro Met Asp Thr Val Thr
 65 70 75 80
 Glu Ala Asp Met Ala Ile His Met Ala Leu Leu Gly Gly Ile Gly Ile
 85 90 95
 Ile His His Asn Cys Thr Ala Glu Glu Gln Ala Glu Met Val Arg Arg
 100 105 110
 Val Lys Lys Tyr Glu Asn Gly Phe Ile Asn Ala Pro Val Val Val Gly
 115 120 125

EP 0 927 761 A2

Pro Asp Ala Thr Val Ala Asp Val Arg Arg Met Lys Asn Glu Phe Gly
130 135 140

Phe Ala Gly Phe Pro Val Thr
145 150

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 9:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 371 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 9:

Asp Asp Gly Lys Pro Thr Gly Lys Leu Gln Gly Ile Ile Thr Ser Arg
1 5 10 15

Asp Ile Gln Phe Val Glu Asp Glu Thr Leu Leu Val Ser Glu Ile Met
20 25 30

Thr Lys Asp Val Ile Thr Gly Lys Gln Gly Ile Asn Leu Glu Glu Ala
35 40 45

Asn Gln Ile Leu Lys Asn Thr Lys Lys Gly Lys Leu Pro Ile Val Asp
50 55 60

Glu Ala Gly Cys Leu Val Ser Met Leu Ser Arg Thr Asp Leu Met Lys
65 70 75 80

Asn Gln Ser Tyr Pro Leu Ala Ser Lys Ser Ala Asp Thr Lys Gln Leu
85 90 95

Leu Cys Gly Ala Ala Ile Gly Thr Ile Asp Ala Asp Arg Gln Arg Leu
100 105 110

Ala Met Leu Val Glu Ala Gly Leu Asp Val Val Val Leu Asp Ser Ser
115 120 125

Gln Gly Asn Ser Val Phe Gln Ile Asn Met Ile Lys Trp Ile Lys Glu
130 135 140

Thr Phe Pro Asp Leu Gln Val Ile Ala Gly Asn Val Val Thr Arg Glu
145 150 155 160

Gln Ala Ala Ser Leu Ile His Ala Gly Ala Asp Gly Leu Arg Ile Gly
165 170 175

Met Gly Ser Gly Ser Ile Cys Ile Thr Gln Glu Val Met Ala Cys Gly
180 185 190

EP 0 927 761 A2

Arg Pro Gln Gly Thr Ala Val Tyr Asn Val Thr Gln Phe Ala Asn Gln
 195 200 205
 5 Phe Gly Val Pro Cys Ile Ala Asp Gly Gly Val Gln Asn Ile Gly His
 210 215 220
 Ile Thr Lys Ala Ile Ala Leu Gly Ala Ser Thr Val Met Met Gly Gly
 225 230 235 240
 10 Met Leu Ala Gly Thr Thr Glu Ser Pro Gly Glu Tyr Phe Phe Arg Asp
 245 250 255
 Gly Lys Arg Leu Lys Thr Tyr Arg Gly Met Gly Ser Ile Asp Ala Met
 260 265 270
 15 Gln Lys Thr Asp Val Lys Gly Asn Ala Ala Thr Ser Arg Tyr Phe Ser
 275 280 285
 Glu Ser Asp Lys Val Leu Val Ala Gln Gly Val Thr Gly Ser Val Ile
 290 295 300
 20 Asp Lys Gly Ser Ile Lys Lys Tyr Ile Pro Tyr Leu Tyr Asn Gly Leu
 305 310 315 320
 25 Gln His Ser Cys Gln Asp Ile Gly Val Arg Ser Leu Val Glu Phe Arg
 325 330 335
 Glu Lys Val Asp Ser Gly Ser Val Arg Phe Glu Phe Arg Thr Pro Ser
 340 345 350
 30 Ala Gln Leu Glu Gly Gly Val His Asn Leu His Ser Tyr Glu Lys Arg
 355 360 365
 Leu Phe Asp
 370
 35

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 10:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

- (A) LÄNGE: 2697 Basenpaare
- (B) ART: Nukleinsäure
- (C) STRANGFORM: Einzel
- (D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: DNS (genomisch)

(iii) HYPOTHETISCH: NEIN

(iii) ANTISENSE: NEIN

(ix) MERKMALE:

- (A) NAME/SCHLÜSSEL: 5'UTR
- (B) LAGE: 1..455

EP 0 927 761 A2

(ix) MERKMALE:
 (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 (B) LAGE: 456..2033

5 (ix) MERKMALE:
 (A) NAME/SCHLÜSSEL: 3'UTR
 (B) LAGE: 2034..2697

10 (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 10:

ATCGATTTC	GGAGATTTT	GGTAGCATT	TTGAGGTCAT	TAGAGGCGTT	CTGTGACTTT	60
CGACGATTG	CACGCGCAG	AGAGGGCGTT	CAACCAGCCT	TTCGGATATT	CCGGTTCGAG	120
15 TTATACCAGC	AGGGATCAGC	GCAGGCACTA	GAGTGGCGGG	TGCTAATAAG	AGGAGCAGGT	180
CCTGGAAC	TG AAGTTGCAAG	AGATAAGCAT	TGCGCGGAGA	AGGAGGCGGT	TAGAGGGTGC	240
AAGCGAGCAG	GATGGGGTCT	TCGATGAACT	TCCCGTCTGG	GTATGTGAAC	AAGCACACGC	300
20 TGCAGGCACA	CCGGTAGGGC	GAGTGCAGGG	TGAAAAATAT	ATATGCGCTC	GAGAAGCGCT	360
GGGGATGAGT	TCGTCTGCAA	CGGCAGGCGG	ATCTTCATCT	GACAAAACCA	GCTGCCTACA	420
25 TCAGTGCGAA	GCTGTTTCAGT	GATAGAATAG	GAGTA ATG GCT GCT GTT GAA CAA			473
			Met Ala Ala Val Glu Gln			
			1	5		
GTT TCT AGC GTG TTT GAC ACC ATT TTG GTG CTG GAC TTC GGG TCC CAG						521
30 Val Ser Ser Val Phe Asp Thr Ile Leu Val Leu Asp Phe Gly Ser Gln						
	10	15	20			
TAC TCG CAT CTG ATC ACG CGG CGG CTG CGT GAG TTT AAT GTG TAC GCG						569
Tyr Ser His Leu Ile Thr Arg Arg Leu Arg Glu Phe Asn Val Tyr Ala						
35	25	30	35			
GAG ATG CTT CCG TGT ACG CAG AAG ATC AGC GAG CTG GGC TGG AAG CCA						617
Glu Met Leu Pro Cys Thr Gln Lys Ile Ser Glu Leu Gly Trp Lys Pro						
40	40	45	50			
AAG GGT GTG ATT TTG TCA GGC GGG CCG TAC TCC GTG TAC GCG GCA GAT						665
Lys Gly Val Ile Leu Ser Gly Gly Pro Tyr Ser Val Tyr Ala Ala Asp						
	55	60	65	70		
45 GCT CCG CAC GTG GAC CGG GCG GTG TTC GAG TTG GGC GTT CCA ATT CTG						713
Ala Pro His Val Asp Arg Ala Val Phe Glu Leu Gly Val Pro Ile Leu						
	75	80	85			
GGC ATC TGC TAC GGG CTA CAG GAG CTT GCG TGG ATA GCC GGC GCA GAG						761
50 Gly Ile Cys Tyr Gly Leu Gln Glu Leu Ala Trp Ile Ala Gly Ala Glu						
	90	95	100			

55

EP 0 927 761 A2

	GTG GGG CGC GGC GAG AAG CGC GAG TAC GGG CGC GCG ACG CTG CAC GTG	809
	Val Gly Arg Gly Glu Lys Arg Glu Tyr Gly Arg Ala Thr Leu His Val	
	105 110 115	
5	GAG GAC AGC GCG TGC CCG CTG TTC AAC AAC GTG GAC AGC AGC ACG GTG	857
	Glu Asp Ser Ala Cys Pro Leu Phe Asn Asn Val Asp Ser Ser Thr Val	
	120 125 130	
10	TGG ATG TCG CAC GGT GAC AAG CTG CAC GCA CTA CCT GCG GAT TTC CAC	905
	Trp Met Ser His Gly Asp Lys Leu His Ala Leu Pro Ala Asp Phe His	
	135 140 145 150	
15	GTC ACT GCG ACG ACG GAG AAC TCT CCT TTC TGC GGG ATT GCA CAC GAC	953
	Val Thr Ala Thr Thr Glu Asn Ser Pro Phe Cys Gly Ile Ala His Asp	
	155 160 165	
20	TCG AAG CCA ATC TTC GGG ATC CAG TTC CAC CCT GAG GTG ACG CAC TCC	1001
	Ser Lys Pro Ile Phe Gly Ile Gln Phe His Pro Glu Val Thr His Ser	
	170 175 180	
25	TCG CAG GGG AAG ACG TTG CTG AAG AAC TTT GCG GTG GAG ATC TGC CAG	1049
	Ser Gln Gly Lys Thr Leu Leu Lys Asn Phe Ala Val Glu Ile Cys Gln	
	185 190 195	
30	GCC GCG CAG ACC TGG ACG ATG GAA AAC TTC ATT GAC ACC GAG ATC CAG	1097
	Ala Ala Gln Thr Trp Thr Met Glu Asn Phe Ile Asp Thr Glu Ile Gln	
	200 205 210	
35	CGG ATC CGG ACC CTT GTG GGC CCC ACC GCG GAA GTC ATC GGT GCT GTG	1145
	Arg Ile Arg Thr Leu Val Gly Pro Thr Ala Glu Val Ile Gly Ala Val	
	215 220 225 230	
40	TCC GGC GGT GTC GAC TCG ACC GTC GCT GCG AAG CTG ATG ACC GAG GCC	1193
	Ser Gly Gly Val Asp Ser Thr Val Ala Ala Lys Leu Met Thr Glu Ala	
	235 240 245	
45	ATC GGC GAC CGG TTC CAC GCG ATC CTG GTC GAC AAC GGT GTT CTG CGC	1241
	Ile Gly Asp Arg Phe His Ala Ile Leu Val Asp Asn Gly Val Leu Arg	
	250 255 260	
50	CTC AAC GAA GCG GCC AAT GTG AAG AAA ATC CTC GGC GAG GGC TTG GGC	1289
	Leu Asn Glu Ala Ala Asn Val Lys Lys Ile Leu Gly Glu Gly Leu Gly	
	265 270 275	
55	ATC AAC TTG ACT GTT GTT GAC GCC TCC GAA GAG TTC TTG ACG AAG CTC	1337
	Ile Asn Leu Thr Val Val Asp Ala Ser Glu Glu Phe Leu Thr Lys Leu	
	280 285 290	
60	AAG GGC GTC ACG GAC CCT GAG AAG AAG AGA AAG ATC ATC GGT AAC ACC	1385
	Lys Gly Val Thr Asp Pro Glu Lys Lys Arg Lys Ile Ile Gly Asn Thr	
	295 300 305 310	

EP 0 927 761 A2

	TTC ATT CAT GTT TTT GAG CGC GAG GCA GCC AGG ATC CAG CCT AAG AAC	1433
	Phe Ile His Val Phe Glu Arg Glu Ala Ala Arg Ile Gln Pro Lys Asn	
	315 320 325	
5	GGC GAG GAG ATT GAG TTC CTG TTG CAG GGT ACC CTA TAC CCT GAC GTT	1481
	Gly Glu Glu Ile Glu Phe Leu Leu Gln Gly Thr Leu Tyr Pro Asp Val	
	330 335 340	
10	ATC GAG TCC ATT TCC TTT AAG GGC CCA TCT CAG ACG ATC AAG ACC CAC	1529
	Ile Glu Ser Ile Ser Phe Lys Gly Pro Ser Gln Thr Ile Lys Thr His	
	345 350 355	
15	CAT AAC GTC GGT GGT CTT TTG GAC AAC ATG AAA CTG AAG CTC ATT GAG	1577
	His Asn Val Gly Gly Leu Leu Asp Asn Met Lys Leu Lys Leu Ile Glu	
	360 365 370	
20	CCT TTG CGC GAG CTT TTC AAG GAC GAG GTG AGA CAC CTG GGA GAA CTA	1625
	Pro Leu Arg Glu Leu Phe Lys Asp Glu Val Arg His Leu Gly Glu Leu	
	375 380 385 390	
25	TTG GGG ATC TCC CAC GAG TTG GTC TGG AGA CAT CCG TTC CCA GGC CCA	1673
	Leu Gly Ile Ser His Glu Leu Val Trp Arg His Pro Phe Pro Gly Pro	
	395 400 405	
30	GGT ATC GCC ATC CGT GTG CTA GGC GAG GTC ACC AAG GAG CAG GTG GAG	1721
	Gly Ile Ala Ile Arg Val Leu Gly Glu Val Thr Lys Glu Gln Val Glu	
	410 415 420	
35	ATT GCC AGA AAG GCA GAC CAC ATC TAC ATC GAG GAG ATC AGG AAA GCA	1769
	Ile Ala Arg Lys Ala Asp His Ile Tyr Ile Glu Glu Ile Arg Lys Ala	
	425 430 435	
40	GGT CTA TAC AAC AAG ATT TCT CAA GCT TTT GCT TGC TTG CTG CCT GTT	1817
	Gly Leu Tyr Asn Lys Ile Ser Gln Ala Phe Ala Cys Leu Leu Pro Val	
	440 445 450	
45	AAG TCT GTG GGT GTC ATG GGT GAC CAG AGA ACC TAC GAC CAG GTC ATT	1865
	Lys Ser Val Gly Val Met Gly Asp Gln Arg Thr Tyr Asp Gln Val Ile	
	455 460 465 470	
50	GCT CTA AGA GCA ATT GAG ACC ACG GAC TTC ATG ACT GCC GAC TGG TAT	1913
	Ala Leu Arg Ala Ile Glu Thr Thr Asp Phe Met Thr Ala Asp Trp Tyr	
	475 480 485	
55	CCA TTT GAG CAC GAA TTC TTG AAG CAT GTC GCA TCC CGT ATT GTT AAC	1961
	Pro Phe Glu His Glu Phe Leu Lys His Val Ala Ser Arg Ile Val Asn	
	490 495 500	
60	GAG GTT GAA GGT GTT GCC AGA GTC ACC TAC GAC ATA ACT TCT AAG CCT	2009
	Glu Val Glu Gly Val Ala Arg Val Thr Tyr Asp Ile Thr Ser Lys Pro	
	505 510 515	

EP 0 927 761 A2

CCA GCT ACC GTT GAA TGG GAA TAATCACCT TGGGATCCGC TGA CTGGCTA 2060
Pro Ala Thr Val Glu Trp Glu
520 525

5 CTGTAATTCT ATGTAGTGA TTAGTACGAT AAGTTACTTT TGTATGATAG ATGTAATCAC 2120
ATCTGGCTAT TAAAATGACT CAGCCGAGGT AAATCTAACG TCCCTTCACA AGGGTGTTCC 2180
10 TGTGTGGACT TCCGCCTGAA TTTTATAGA TATATAGATA CTCTACTCAT GAACAACCTG 2240
CAACCGAATA AGCATTAGTG CCAGGAGAAG AGAACCGTGG AAATGGGGCA AGTAGAAAAA 2300
ATCATATTCC TTAAGAATAA GACAGTACCA GAGGACCATT ACGAGACGAT TTTTGAATCG 2360
15 AATGGCTTCC AGACTCACTT TGTACCCATA ATAACCCATG AACACCTGCC AGATGAGGTT 2420
CGCGGTCGAC TATCCGACGC GAATTACATG AAAAGGTTGA ATTGTTTGGT GGTAACCTCT 2480
CAGAGGACTG TGGAGTGTCT CTATGAGGAC GTTCTGCCCT CTCTCCAGC TGAAGCACGC 2540
20 AAATCTCTTC TCAATACGCC AGTATTCGTG GTTGGGCGTG CCACTCAGGA ATTTATGGAG 2600
AGATGCGGCT TTACGGACGT GAGAGGGGGA TCTGAGACTG GTAATGGCGT TTTGCTAGCG 2660
GAGTTAATGT TAAATATGAT CCAGAAGGGC GATGGGG 2697

25 (2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 11:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 525 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 11:

35 Met Ala Ala Val Glu Gln Val Ser Ser Val Phe Asp Thr Ile Leu Val
1 5 10 15
40 Leu Asp Phe Gly Ser Gln Tyr Ser His Leu Ile Thr Arg Arg Leu Arg
20 25 30
Glu Phe Asn Val Tyr Ala Glu Met Leu Pro Cys Thr Gln Lys Ile Ser
35 40 45
45 Glu Leu Gly Trp Lys Pro Lys Gly Val Ile Leu Ser Gly Gly Pro Tyr
50 55 60
Ser Val Tyr Ala Ala Asp Ala Pro His Val Asp Arg Ala Val Phe Glu
65 70 75 80
50 Leu Gly Val Pro Ile Leu Gly Ile Cys Tyr Gly Leu Gln Glu Leu Ala
85 90 95

55

EP 0 927 761 A2

	Trp	Ile	Ala	Gly	Ala	Glu	Val	Gly	Arg	Gly	Glu	Lys	Arg	Glu	Tyr	Gly	
				100					105					110			
5	Arg	Ala	Thr	Leu	His	Val	Glu	Asp	Ser	Ala	Cys	Pro	Leu	Phe	Asn	Asn	
			115					120					125				
	Val	Asp	Ser	Ser	Thr	Val	Trp	Met	Ser	His	Gly	Asp	Lys	Leu	His	Ala	
		130					135					140					
10	Leu	Pro	Ala	Asp	Phe	His	Val	Thr	Ala	Thr	Thr	Glu	Asn	Ser	Pro	Phe	
	145					150					155					160	
	Cys	Gly	Ile	Ala	His	Asp	Ser	Lys	Pro	Ile	Phe	Gly	Ile	Gln	Phe	His	
				165					170					175			
15	Pro	Glu	Val	Thr	His	Ser	Ser	Gln	Gly	Lys	Thr	Leu	Leu	Lys	Asn	Phe	
			180					185						190			
	Ala	Val	Glu	Ile	Cys	Gln	Ala	Ala	Gln	Thr	Trp	Thr	Met	Glu	Asn	Phe	
20			195				200						205				
	Ile	Asp	Thr	Glu	Ile	Gln	Arg	Ile	Arg	Thr	Leu	Val	Gly	Pro	Thr	Ala	
	210					215						220					
25	Glu	Val	Ile	Gly	Ala	Val	Ser	Gly	Gly	Val	Asp	Ser	Thr	Val	Ala	Ala	
	225				230					235						240	
	Lys	Leu	Met	Thr	Glu	Ala	Ile	Gly	Asp	Arg	Phe	His	Ala	Ile	Leu	Val	
				245					250					255			
30	Asp	Asn	Gly	Val	Leu	Arg	Leu	Asn	Glu	Ala	Ala	Asn	Val	Lys	Lys	Ile	
			260					265					270				
	Leu	Gly	Glu	Gly	Leu	Gly	Ile	Asn	Leu	Thr	Val	Val	Asp	Ala	Ser	Glu	
35		275				280					285						
	Glu	Phe	Leu	Thr	Lys	Leu	Lys	Gly	Val	Thr	Asp	Pro	Glu	Lys	Lys	Arg	
	290					295					300						
	Lys	Ile	Ile	Gly	Asn	Thr	Phe	Ile	His	Val	Phe	Glu	Arg	Glu	Ala	Ala	
40	305				310					315						320	
	Arg	Ile	Gln	Pro	Lys	Asn	Gly	Glu	Glu	Ile	Glu	Phe	Leu	Leu	Gln	Gly	
				325					330					335			
45	Thr	Leu	Tyr	Pro	Asp	Val	Ile	Glu	Ser	Ile	Ser	Phe	Lys	Gly	Pro	Ser	
			340					345					350				
	Gln	Thr	Ile	Lys	Thr	His	His	Asn	Val	Gly	Gly	Leu	Leu	Asp	Asn	Met	
		355				360						365					
50	Lys	Leu	Lys	Leu	Ile	Glu	Pro	Leu	Arg	Glu	Leu	Phe	Lys	Asp	Glu	Val	
	370					375						380					
55																	

EP 0 927 761 A2

Arg His Leu Gly Glu Leu Leu Gly Ile Ser His Glu Leu Val Trp Arg
 385 390 395 400

5 His Pro Phe Pro Gly Pro Gly Ile Ala Ile Arg Val Leu Gly Glu Val
 405 410 415

Thr Lys Glu Gln Val Glu Ile Ala Arg Lys Ala Asp His Ile Tyr Ile
 420 425 430

10 Glu Glu Ile Arg Lys Ala Gly Leu Tyr Asn Lys Ile Ser Gln Ala Phe
 435 440 445

Ala Cys Leu Leu Pro Val Lys Ser Val Gly Val Met Gly Asp Gln Arg
 450 455 460

15 Thr Tyr Asp Gln Val Ile Ala Leu Arg Ala Ile Glu Thr Thr Asp Phe
 465 470 475 480

Met Thr Ala Asp Trp Tyr Pro Phe Glu His Glu Phe Leu Lys His Val
 485 490 495

20 Ala Ser Arg Ile Val Asn Glu Val Glu Gly Val Ala Arg Val Thr Tyr
 500 505 510

25 Asp Ile Thr Ser Lys Pro Pro Ala Thr Val Glu Trp Glu
 515 520 525

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 12:

- (i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:
- (A) LÄNGE: 1634 Basenpaare
 - (B) ART: Nukleinsäure
 - (C) STRANGFORM: Doppel
 - (D) TOPOLOGIE: linear
- (ii) ART DES MOLEKÜLS: cDNS zu mRNS
- (iii) HYPOTHETISCH: NEIN
- (iii) ANTISENSE: NEIN
- (ix) MERKMALE:
- (A) NAME/SCHLÜSSEL: 5'UTR
 - (B) LAGE: 1..519
- (ix) MERKMALE:
- (A) NAME/SCHLÜSSEL: CDS
 - (B) LAGE: 520..1482
- (ix) MERKMALE:
- (A) NAME/SCHLÜSSEL: 3'UTR
 - (B) LAGE: 1483..1634
- (xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 12:

EP 0 927 761 A2

	CCTCGAACAT CTATCTTCTG AGCTCGATAG TCTACGAAAT CGGCACACTA GCCTAATTGC	60
	CGAGATGAAG AGCTCCAGGG AACCGTTAAA GATCTGATGT TCCATCTTCA ATCAGGACAA	120
5	ATGTTACGGG ATGTCCCTGA CGCCACAGAA GGTAGCCTGG TGGTCCAGAC AGAAAAAGAG	180
	CCTACACCAA AGAAGAAACA TAACAAGAAA AAGCCTCCGC ATCGTTTTGG TAAATCATAA	240
10	TAGGCACGAT GCGCATATAC CCTGACCATC ATAGCGGTTC CCCCCGCTAA CTGCTCCGAG	300
	CGGGTAACCC CATGTCACAA AGTGACTCTG TCTCTTCGTG GTAGGTGATG TCAAATTTTC	360
	ACGACTTCCC ACCCCGATGA GCATCCGTAT TCCTTTTCAT CTAAATTCTA ATAGATGGCT	420
15	TATGGATTCT TATTGGCGAC TTACAAGCCT ATGTAGTTGG CTTCCCTCAA GTGTTCTGATG	480
	TCTACCACCT CACACCCGGT CTAACAGCTT ACGAGAATA ATG GCT ACT AAT GCA	534
	Met Ala Thr Asn Ala	
	1 5	
20	ATC AAG CTT CTT GCG CCA GAT ATC CAC AGG GGT CTG GCA GAG CTG GTC	582
	Ile Lys Leu Leu Ala Pro Asp Ile His Arg Gly Leu Ala Glu Leu Val	
	10 15 20	
25	GCT AAA CGC CTA GGC TTA CGT CTG ACA GAC TGC AAG CTT AAG CGG GAT	630
	Ala Lys Arg Leu Gly Leu Arg Leu Thr Asp Cys Lys Leu Lys Arg Asp	
	25 30 35	
30	TGT AAC GGG GAG GCG ACA TTT TCG ATC GGA GAA TCT GTT CGA GAC CAG	678
	Cys Asn Gly Glu Ala Thr Phe Ser Ile Gly Glu Ser Val Arg Asp Gln	
	40 45 50	
35	GAT ATC TAC ATC ATC ACG CAG GTG GGG TCC GGG GAC GTG AAC GAC CGA	726
	Asp Ile Tyr Ile Ile Thr Gln Val Gly Ser Gly Asp Val Asn Asp Arg	
	55 60 65	
40	GTG CTG GAG CTG CTC ATC ATG ATC AAC GCT AGC AAG ACG GCG TCT GCG	774
	Val Leu Glu Leu Leu Ile Met Ile Asn Ala Ser Lys Thr Ala Ser Ala	
	70 75 80 85	
45	CGG CGA ATT ACG GCT GTG ATT CCA AAC TTC CCA TAC GCG CGG CAG GAC	822
	Arg Arg Ile Thr Ala Val Ile Pro Asn Phe Pro Tyr Ala Arg Gln Asp	
	90 95 100	
50	CGG AAG GAT AAG TCA CGG GCG CCA ATT ACC GCG AAG CTC ATG GCG GAC	870
	Arg Lys Asp Lys Ser Arg Ala Pro Ile Thr Ala Lys Leu Met Ala Asp	
	105 110 115	
55	ATG CTG ACT ACC GCG GGC TGC GAT CAT GTC ATC ACC ATG GAC TTA CAC	918
	Met Leu Thr Thr Ala Gly Cys Asp His Val Ile Thr Met Asp Leu His	
	120 125 130	

EP 0 927 761 A2

	GCT TCG CAA ATC CAG GGC TTC TTT GAT GTA CCA GTT GAC AAC CTT TAC	966
	Ala Ser Gln Ile Gln Gly Phe Phe Asp Val Pro Val Asp Asn Leu Tyr	
	135 140 145	
5	GCA GAG CCT AGC GTG GTG AAG TAT ATC AAG GAG CAT ATT CCC CAC GAC	1014
	Ala Glu Pro Ser Val Val Lys Tyr Ile Lys Glu His Ile Pro His Asp	
	150 155 160 165	
10	GAT GCC ATC ATC ATC TCG CCG GAT GCT GGT GGT GCC AAA CGT GCG TCG	1062
	Asp Ala Ile Ile Ile Ser Pro Asp Ala Gly Gly Ala Lys Arg Ala Ser	
	170 175 180	
15	CTT CTA TCA GAT CGC CTA AAC TTG AAC TTT GCG CTG ATT CAT AAG GAA	1110
	Leu Leu Ser Asp Arg Leu Asn Leu Asn Phe Ala Leu Ile His Lys Glu	
	185 190 195	
20	CGT GCA AAG GCA AAC GAA GTG TCC CGC ATG GTT CTG GTC GGC GAT GTT	1158
	Arg Ala Lys Ala Asn Glu Val Ser Arg Met Val Leu Val Gly Asp Val	
	200 205 210	
25	ACC GAT AAA GTC TGC ATT ATC GTT GAC GAT ATG GCG GAT ACT TGT GGT	1206
	Thr Asp Lys Val Cys Ile Ile Val Asp Asp Met Ala Asp Thr Cys Gly	
	215 220 225	
30	ACG CTG GCC AAG GCG GCA GAA GTG CTG CTA GAG CAC AAC GCG CGG TCT	1254
	Thr Leu Ala Lys Ala Ala Glu Val Leu Leu Glu His Asn Ala Arg Ser	
	230 235 240 245	
35	GTG ATA GCC ATT GTT ACC CAC GGT ATC CTT TCA GGA AAG GCC ATT GAG	1302
	Val Ile Ala Ile Val Thr His Gly Ile Leu Ser Gly Lys Ala Ile Glu	
	250 255 260	
40	AAC ATC AAC AAT TCG AAG CTT GAT AGG GTT GTG TGT ACC AAC ACC GTG	1350
	Asn Ile Asn Asn Ser Lys Leu Asp Arg Val Val Cys Thr Asn Thr Val	
	265 270 275	
45	CCA TTC GAG GAG AAG ATG AAG TTA TGC CCG AAG TTA GAT GTA ATT GAT	1398
	Pro Phe Glu Glu Lys Met Lys Leu Cys Pro Lys Leu Asp Val Ile Asp	
	280 285 290	
50	ATC TCG GCA GTT CTT GCG GAA TCC ATT CGC CGT CTA CAC AAT GGT GAA	1446
	Ile Ser Ala Val Leu Ala Glu Ser Ile Arg Arg Leu His Asn Gly Glu	
	295 300 305	
55	AGT ATC TCC TAC CTC TTT AAA AAC AAC CCA CTA TGATTTTGCT TCTCGATGCT	1499
	Ser Ile Ser Tyr Leu Phe Lys Asn Asn Pro Leu	
	310 315 320	
	GGCTTCTTGA GGGCCAATTT TGCCGTAGAG GTAGTATCCC TTCTTTTAT ATTGACTATT	1559
	TAACGAAGAC TATTTCTTCA TAAATGGACT TCGGCTTCAC TGTGAATCTC ACATGATATA	1619
	GTGTTTCAG AGACC	1634

EP 0 927 761 A2

(2) INFORMATION ZU SEQ ID NO: 13:

(i) SEQUENZ CHARAKTERISTIKA:

(A) LÄNGE: 320 Aminosäuren

(B) ART: Aminosäure

(D) TOPOLOGIE: linear

(ii) ART DES MOLEKÜLS: Protein

(xi) SEQUENZBESCHREIBUNG: SEQ ID NO: 13:

Met	Ala	Thr	Asn	Ala	Ile	Lys	Leu	Leu	Ala	Pro	Asp	Ile	His	Arg	Gly	1	5	10	15
Leu	Ala	Glu	Leu	Val	Ala	Lys	Arg	Leu	Gly	Leu	Arg	Leu	Thr	Asp	Cys	20	25	30	
Lys	Leu	Lys	Arg	Asp	Cys	Asn	Gly	Glu	Ala	Thr	Phe	Ser	Ile	Gly	Glu	35	40	45	
Ser	Val	Arg	Asp	Gln	Asp	Ile	Tyr	Ile	Ile	Thr	Gln	Val	Gly	Ser	Gly	50	55	60	
Asp	Val	Asn	Asp	Arg	Val	Leu	Glu	Leu	Leu	Ile	Met	Ile	Asn	Ala	Ser	65	70	75	80
Lys	Thr	Ala	Ser	Ala	Arg	Arg	Ile	Thr	Ala	Val	Ile	Pro	Asn	Phe	Pro	85	90	95	
Tyr	Ala	Arg	Gln	Asp	Arg	Lys	Asp	Lys	Ser	Arg	Ala	Pro	Ile	Thr	Ala	100	105	110	
Lys	Leu	Met	Ala	Asp	Met	Leu	Thr	Thr	Ala	Gly	Cys	Asp	His	Val	Ile	115	120	125	
Thr	Met	Asp	Leu	His	Ala	Ser	Gln	Ile	Gln	Gly	Phe	Phe	Asp	Val	Pro	130	135	140	
Val	Asp	Asn	Leu	Tyr	Ala	Glu	Pro	Ser	Val	Val	Lys	Tyr	Ile	Lys	Glu	145	150	155	160
His	Ile	Pro	His	Asp	Asp	Ala	Ile	Ile	Ile	Ser	Pro	Asp	Ala	Gly	Gly	165	170	175	
Ala	Lys	Arg	Ala	Ser	Leu	Leu	Ser	Asp	Arg	Leu	Asn	Leu	Asn	Phe	Ala	180	185	190	
Leu	Ile	His	Lys	Glu	Arg	Ala	Lys	Ala	Asn	Glu	Val	Ser	Arg	Met	Val	195	200	205	
Leu	Val	Gly	Asp	Val	Thr	Asp	Lys	Val	Cys	Ile	Ile	Val	Asp	Asp	Met	210	215	220	

Ala Asp Thr Cys Gly Thr Leu Ala Lys Ala Ala Glu Val Leu Leu Glu
 225 230 235 240

5 His Asn Ala Arg Ser Val Ile Ala Ile Val Thr His Gly Ile Leu Ser
 245 250 255

Gly Lys Ala Ile Glu Asn Ile Asn Asn Ser Lys Leu Asp Arg Val Val
 10 260 265 270

Cys Thr Asn Thr Val Pro Phe Glu Glu Lys Met Lys Leu Cys Pro Lys
 275 280 285

15 Leu Asp Val Ile Asp Ile Ser Ala Val Leu Ala Glu Ser Ile Arg Arg
 290 295 300

Leu His Asn Gly Glu Ser Ile Ser Tyr Leu Phe Lys Asn Asn Pro Leu
 20 305 310 315 320

Patentansprüche

1. Protein mit der in SEQ ID NO:2 dargestellten Polypeptidsequenz oder einer aus SEQ ID NO:2 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 15% der Aminosäuren erhältlichen Polypeptidsequenz und der enzymatischen Aktivität einer Phosphoribosylpyrophosphat-Synthetase.
2. Protein nach Anspruch 1, das keine feed-back Hemmung durch Folgeprodukte von Stoffwechselwegen, die von Produkten des Enzyms ausgehen, mehr aufweist.
3. Protein nach Anspruch 1, das nicht mehr durch Zwischenprodukte der Purinbiosynthese, insbesondere durch Purinbasen, Purinnukleoside, Purinnukleotid-5'-Monophosphate oder Purinnukleotid-5'-Diphosphate oder Purinnukleotid-5'-Triphosphate gehemmt werden.
4. Protein nach Anspruch 1, bei dem eine oder mehrere der folgenden Aminosäureaustausche vorliegen: Lysin an Position 7 ausgetauscht gegen Valin, Aspartat an Position 52 ausgetauscht gegen Histidin, Leucin an Position 133 ausgetauscht gegen Isoleucin, Aspartat an Position 186 ausgetauscht gegen Histidin, Alanin an Position 193 ausgetauscht gegen Valin oder Histidin an Position 196 ausgetauscht gegen Glutamin.
5. Nukleinsäuresequenz codierend für ein Protein gemäß Anspruch 1.
6. Protein mit der in SEQ ID NO: 13 dargestellten Polypeptidsequenz oder einer aus SEQ ID NO: 13 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 10% der Aminosäuren erhältlichen Polypeptidsequenz und der enzymatischen Aktivität einer Phosphoribosylpyrophosphat-Synthetase.
7. Nukleinsäuresequenz codierend für ein Protein gemäß Anspruch 6.
8. Protein mit der in SEQ ID NO:5 dargestellten Polypeptidsequenz oder einer aus SEQ ID NO:5 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 10% der Aminosäuren erhältlichen Polypeptidsequenz und der enzymatischen Aktivität einer Glutamin-Phosphoribosylpyrophosphat-Amidotransferase.
9. Protein nach Anspruch 8, das keine feed-back Hemmung durch Folgeprodukte von Stoffwechselwegen, die von Produkten des Enzyms ausgehen, mehr aufweist.

10. Protein nach Anspruch 8, das nicht mehr durch Zwischenprodukte der Purinbiosynthese, insbesondere durch Purinbasen, Purinnukleoside, Purinnukleotid-5'-Monophosphate oder Purinnukleotid-5'-Diphosphate oder Purinnukleotid-5'-Triphosphate gehemmt werden.
- 5 11. Protein nach Anspruch 8, bei dem eine oder mehrere der folgenden Aminosäureaustausche vorliegen: Aspartat an Position 310 ausgetauscht gegen Valin, Lysin an Position 333 ausgetauscht gegen Alanin oder Alanin an Position 417 ausgetauscht gegen Tryptophan.
12. Nukleinsäuresequenz codierend für ein Protein gemäß Anspruch 8.
- 10 13. Protein mit der in SEQ ID NO:8 und 9 dargestellten Polypeptidsequenz oder einer aus SEQ ID NO:8 und 9 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 20% der Aminosäuren erhältlichen Polypeptidsequenz und der enzymatischen Aktivität einer IMP-Dehydrogenase.
- 15 14. Protein nach Anspruch 13, das keine feed-back Hemmung durch Folgeprodukte von Stoffwechselwegen, die von Produkten des Enzyms ausgehen, mehr aufweist.
15. Protein nach Anspruch 13, das nicht mehr durch Zwischenprodukte der Purinbiosynthese, insbesondere durch Purinbasen, Purinnukleoside, Purinnukleotid-5'-Monophosphate oder Purinnukleotid-5'-Diphosphate oder Purinnukleotid-5'-Triphosphate gehemmt werden.
- 20 16. Nukleinsäuresequenz codierend für ein Protein gemäß Anspruch 13.
17. Protein mit der in SEQ ID NO:11 dargestellten Polypeptidsequenz oder einer aus SEQ ID NO:11 durch Substitution, Insertion oder Deletion von bis zu 10% der Aminosäuren erhältlichen Polypeptidsequenz und der enzymatischen Aktivität einer GMP-Synthetase.
- 25 18. Protein nach Anspruch 17, das keine feed-back Hemmung durch Folgeprodukte von Stoffwechselwegen, die von Produkten der Enzyme ausgehen, mehr aufweist.
- 30 19. Protein nach Anspruch 17, das nicht mehr durch Zwischenprodukte der Purinbiosynthese, insbesondere durch Purinbasen, Purinnukleoside, Purinnukleotid-5'-Monophosphate oder Purinnukleotid-5'-Diphosphate oder Purinnukleotid-5'-Triphosphate gehemmt werden.
- 35 20. Nukleinsäuresequenz codierend für ein Protein gemäß Anspruch 17.
21. Verwendung einer oder mehrerer der Nukleinsäuresequenzen nach den oben genannten Ansprüchen zur gentechnischen Konstruktion von Mikroorganismen, die zur Herstellung von Riboflavin in der Lage sind.
- 40 22. Verfahren zur Herstellung von Riboflavin durch Kultivierung von Mikroorganismen, die in mindestens einem Gen der Purinbiosynthese genetisch verändert worden sind.
23. Verfahren nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem Mikroorganismus um ein Bakterium der Gattung Bacillus oder Corynebakterium handelt.
- 45 24. Verfahren nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem Mikroorganismus um einen eukaryontischen Mikroorganismus handelt.
25. Verfahren nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem Mikroorganismus um Ashbya gossypii handelt.
- 50 26. Verfahren nach Anspruch 24, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem Mikroorganismus um eine Hefe handelt.
- 55 27. Verfahren nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, daß es sich bei dem Mikroorganismus um eine Hefe der Gattung Candida, Saccharomyces oder Pichia handelt.
28. Verfahren nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, daß die Veränderung in mindestens einer zusätzlichen



Kopie von mindestens einer der Nukleinsäuresequenzen gemäß Anspruch 5, 12, 16, 20 besteht.

29. Verfahren nach Anspruch 22, dadurch gekennzeichnet, daß durch die genetische Veränderung ein Gen codierend für ein Protein gemäß Anspruch 1, 6, 13, 17 erzeugt wird.

5

10

15

20

25

30

35

40

45

50

55

Abb. 1

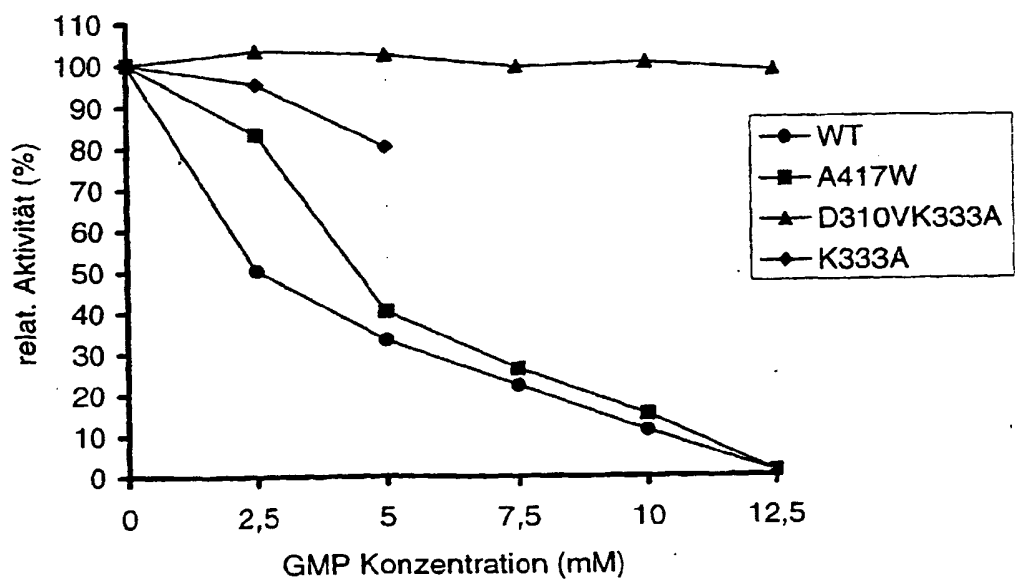
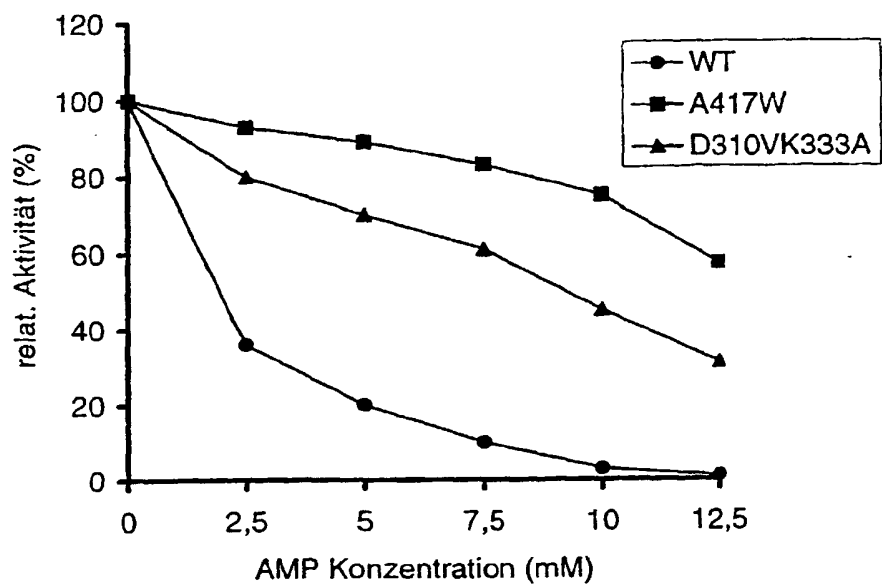
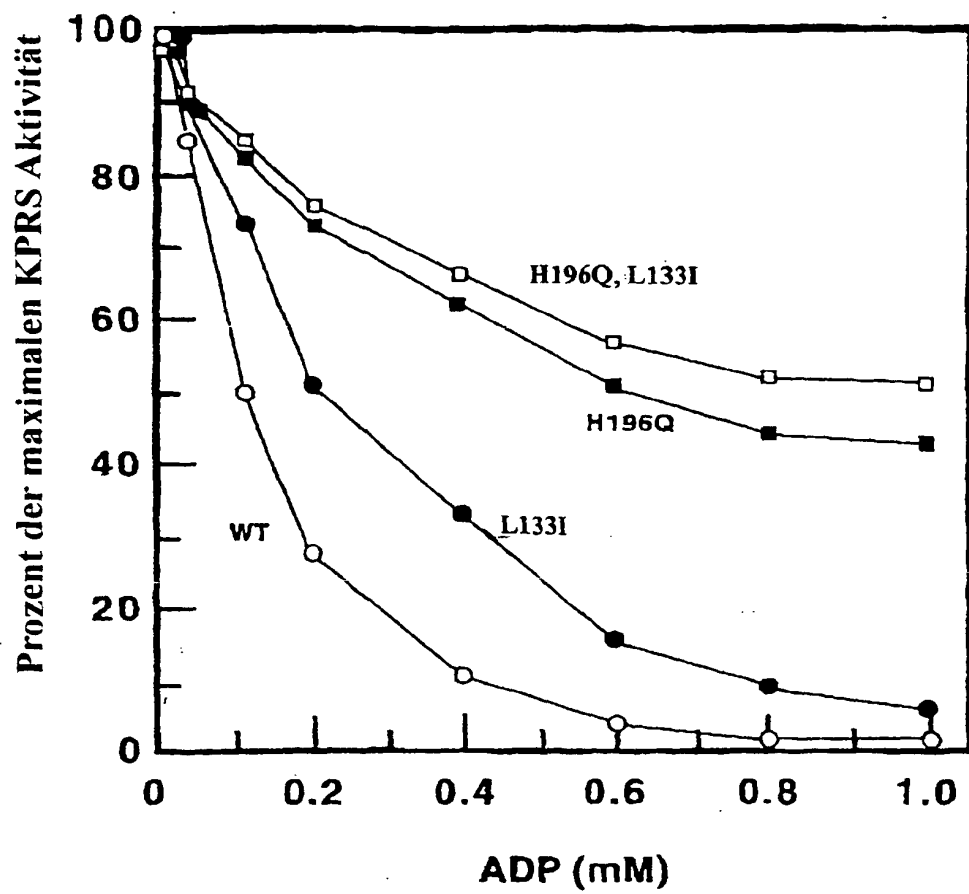


Abb. 2



Hemmung der Wildtyp und mutagenisierten KPRS durch ADP

Abb. 1

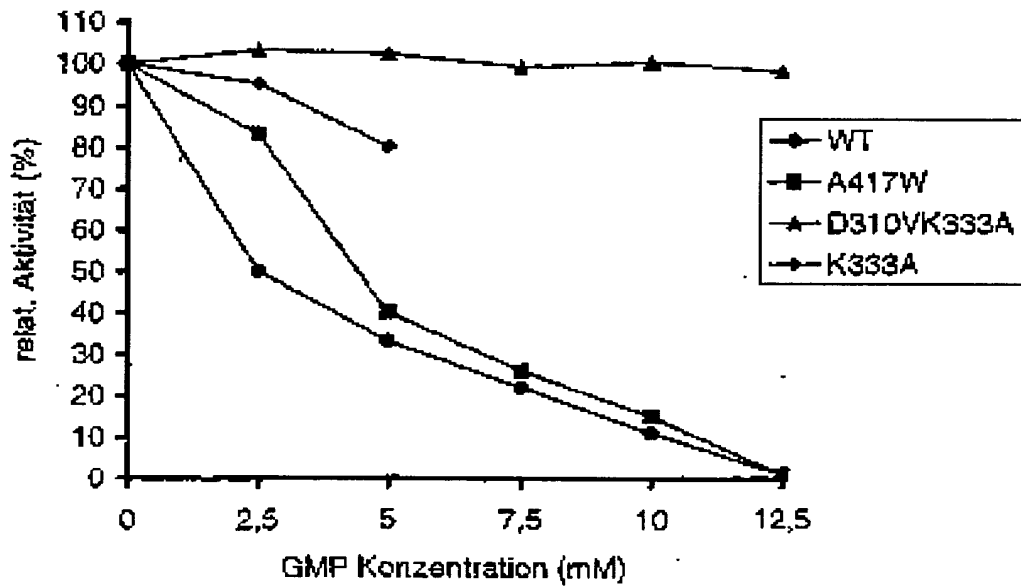
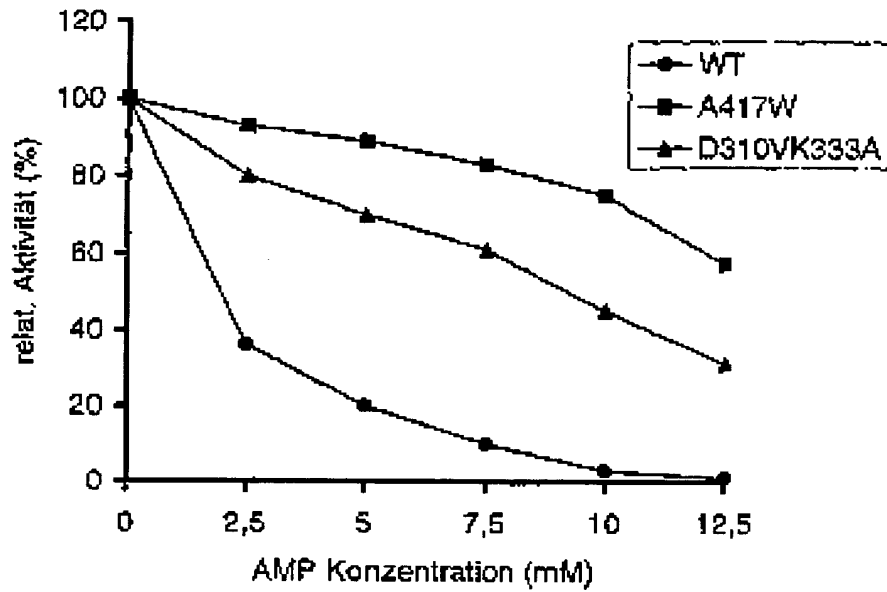
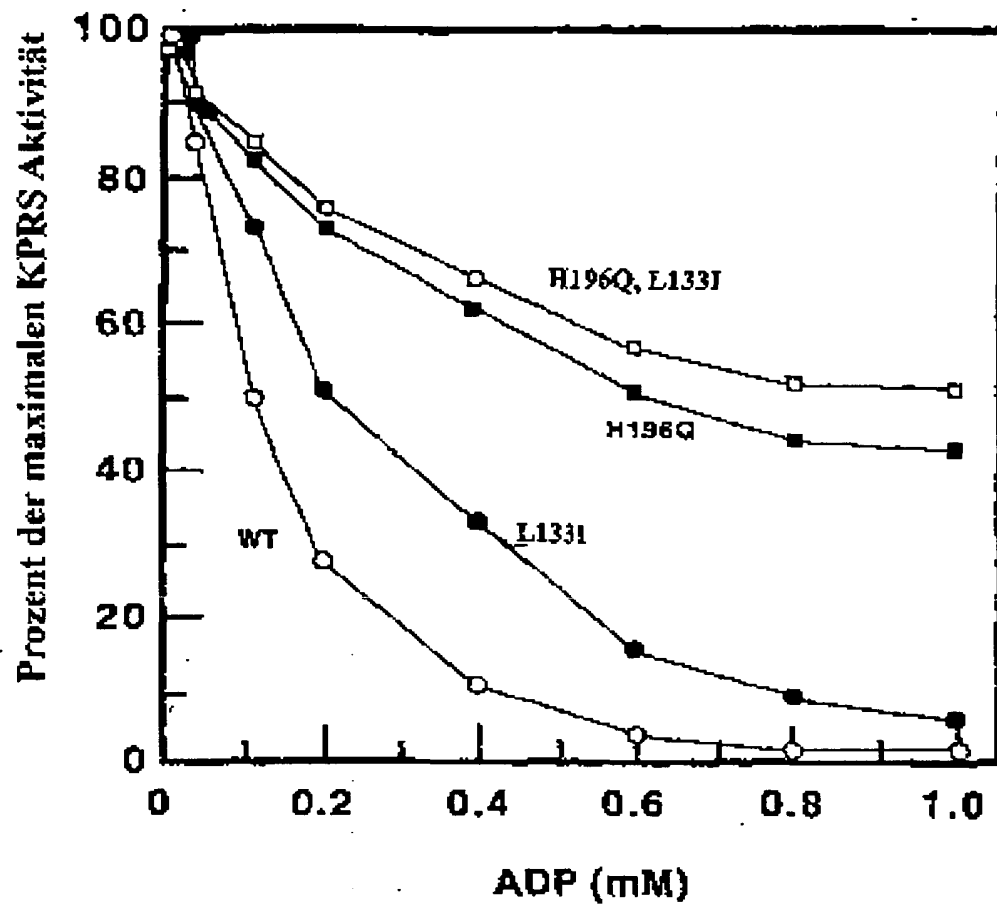


Abb. 2



Hemmung der Wildtyp und mutagenisierten KPRS durch ADP